

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-128

(P2004-128A)

(43) 公開日 平成16年1月8日(2004.1.8)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	4 B O 2 4
C 1 2 N 15/09	C 1 2 Q 1/02	4 B O 6 3
C 1 2 Q 1/02	C 1 2 Q 1/42	
C 1 2 Q 1/42	C 1 2 Q 1/44	
C 1 2 Q 1/44	G O 1 N 33/53 D	
審査請求 未請求 請求項の数 17 O L (全 98 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2002-331107 (P2002-331107)	(71) 出願人	396020800
(22) 出願日	平成14年11月14日 (2002.11.14)		科学技術振興事業団
(31) 優先権主張番号	特願2002-103495 (P2002-103495)		埼玉県川口市本町4丁目1番8号
(32) 優先日	平成14年4月5日 (2002.4.5)	(74) 代理人	100080034
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		弁理士 原 謙三
		(72) 発明者	岡 剛史
			岡山県岡山市津島中1丁目4番2-304号
		(72) 発明者	大内田 守
			岡山県岡山市門田屋敷2丁目2番58-106号
		Fターム(参考)	4B024 AA11 CA01 CA12 CA20 HA09 HA12 HA20
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 造血器腫瘍細胞検出方法および造血器腫瘍細胞検出キット

(57) 【要約】

【課題】 分子生物学的知見を利用して、造血器腫瘍細胞の高感度かつ高特異的に検出する造血器腫瘍細胞検出方法および検出キットを提供する。

【解決手段】 造血器細胞を含む検体試料中に含まれる、造血器細胞に特異的なプロテインチロシンホスファターゼ S H P 1 蛋白質を定量するとともに、上記検体試料から得られる S H P 1 遺伝子の塩基配列中に含まれる C p G 島のメチル化を確認する。これによって、一つの遺伝情報により造血器腫瘍細胞の有無を2段階で確認するため、非常に高い特異性で造血器腫瘍細胞を検出することができる。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(1) 造血器細胞を含む検体試料中に含まれる、造血器細胞に特異的なプロテインチロシンホスファターゼ S H P 1 遺伝子の塩基配列中に含まれる C p G 島のメチル化を確認する S H P 1 遺伝子メチル化確認工程、

(2) 上記検体試料から得られる S H P 1 蛋白質および S H P 1 m R N A の少なくとも一方の発現量を定量する S H P 1 遺伝子産物定量工程、および、

(3) 上記検体試料に含まれる S H P 1 遺伝子の異型接合性喪失 (L O H) の有無を確認する S H P 1 遺伝子 L O H 確認工程、

の少なくとも何れかを含むことを特徴とする造血器腫瘍細胞検出方法。

10

【請求項 2】

上記 S H P 1 遺伝子メチル化確認工程には、

上記検体試料から得られた遺伝子試料を、シトシンを含む塩基配列を認識するメチル化感受性制限酵素で処理する遺伝子切断試行段階と、

上記メチル化感受性制限酵素で処理された遺伝子に対して、上記 S H P 1 遺伝子の塩基配列中に含まれ、上記メチル化感受性制限酵素に認識切断される塩基配列を含む領域を増幅するプライマーを用いて、ポリメラーゼ連鎖反応法 (P C R) を実施する遺伝子増幅試行段階と、

増幅された特定のサイズの遺伝子の量を確認する遺伝子増幅量確認段階とが含まれることを特徴とする請求項 1 に記載の造血器腫瘍細胞検出方法。

20

【請求項 3】

上記プライマーが、さらに、配列番号 1 または 2 に示す塩基配列に含まれる部分塩基配列、またはこの部分塩基配列と相補性を有するポリヌクレオチドであることを特徴とする請求項 2 に記載の造血器腫瘍細胞検出方法。

【請求項 4】

上記遺伝子増幅量確認段階では、電気泳動法を用いて特定サイズの遺伝子の量を確認することを特徴とする請求項 2 または 3 に記載の造血器腫瘍細胞検出方法。

【請求項 5】

上記遺伝子切断試行段階では、制限酵素として、メチル化感受性制限酵素を用いることを特徴とする請求項 2、3 または 4 に記載の造血器腫瘍細胞検出方法。

30

【請求項 6】

上記 S H P 1 遺伝子メチル化確認工程には、

上記検体試料から得られる遺伝子試料を、重亜硫酸塩で処理する遺伝子修飾段階と、重亜硫酸塩で処理された遺伝子試料に含まれる、S H P 1 遺伝子の塩基配列中のメチル化シトシンの有無を判定するメチル化シトシン含有判定段階とが含まれることを特徴とする請求項 1 に記載の造血器腫瘍細胞検出方法。

【請求項 7】

上記メチル化シトシン含有判定段階では、P C R によりメチル化シトシンを検出する方法、遺伝子の塩基配列の決定によりメチル化シトシンを検出する方法、またはメチル化シトシンを含む塩基配列を識別する方法のうち、少なくとも何れかが用いられることを特徴とする請求項 6 に記載の造血器腫瘍細胞検出方法。

40

【請求項 8】

上記遺伝子修飾段階では、重亜硫酸塩として、重亜硫酸ナトリウムが用いられることを特徴とする請求項 6 または 7 に記載の造血器腫瘍細胞検出方法。

【請求項 9】

上記 S H P 1 遺伝子産物定量工程では、S H P 1 蛋白質を抗原とする S H P 1 抗体を用いて S H P 1 蛋白質を定量することを特徴とする請求項 1 ないし 8 の何れか 1 項に記載の造血器腫瘍細胞検出方法。

【請求項 10】

上記 S H P 1 遺伝子産物定量工程では、酵素抗体法またはウエスタンブロッティング法に

50

より S H P 1 蛋白質が定量されることを特徴とする請求項 9 に記載の造血器腫瘍細胞検出方法。

【請求項 1 1】

上記 S H P 1 遺伝子産物定量工程では、配列番号 3 に示す S H P 1 遺伝子 c D N A の塩基配列の全長またはその一部を検出するポリヌクレオチドを用いて S H P 1 遺伝子の m R N A の発現を検出することにより、S H P 1 m R N A を定量することを特徴とする請求項 1 ないし 8 の何れか 1 項に記載の造血器腫瘍細胞検出方法。

【請求項 1 2】

上記 S H P 1 遺伝子産物定量工程では、ノーザンブロッティング法、逆転写 P C R 法、リアルタイム P C R 法、または R N A i n s i t u ハイブリダイゼーション法により S H P 1 遺伝子の m R N A の発現が検出されることを特徴とする請求項 1 1 に記載の造血器腫瘍細胞検出方法。 10

【請求項 1 3】

異型接合性喪失の有無の確認は、上記 S H P 1 遺伝子を挟み込む 2 つのマイクロサテライト・マーカの少なくとも一方、または、上記 S H P 遺伝子中か、その近辺に存在する単一塩基多型のような遺伝子多型を、P C R を用いたフラグメント解析により実施されることを特徴とする請求項 1 ないし 1 2 の何れか 1 項に記載の造血器腫瘍細胞検出方法。

【請求項 1 4】

造血器細胞を含む検体試料から造血器腫瘍細胞を検出するために用いられ、

(1) 造血器細胞に特異的なプロテインチロシンホスファターゼ S H P 1 蛋白質を抗原とする S H P 1 抗体、および 20

(2) シトシンを含む塩基配列を認識するメチル化感受性制限酵素と、S H P 1 遺伝子の塩基配列中に含まれ、上記メチル化感受性制限酵素に認識される塩基配列を含む領域を増幅する P C R 用のプライマーと、上記 S H P 1 遺伝子のメチル化陽性及びメチル化陰性対照 D N A とのうち、少なくとも一方を含むことを特徴とする造血器腫瘍細胞検出キット。

【請求項 1 5】

造血器細胞を含む検体試料から造血器腫瘍細胞を検出するために用いられ、

(1) 造血器細胞に特異的なプロテインチロシンホスファターゼ S H P 1 蛋白質を抗原とする S H P 1 抗体、 30

(2) 遺伝子処理レベルまで精製された重亜硫酸塩と、該重亜硫酸塩で処理された遺伝子試料に含まれる S H P 1 遺伝子の塩基配列中のシトシンの有無の判定用プライマー、および

(3) 配列番号 3 に示す S H P 1 遺伝子 c D N A の塩基配列の全長またはその一部を検出する P C R 用のプライマーのうち、少なくとも何れか一つを含むことを特徴とする造血器腫瘍細胞検出キット。

【請求項 1 6】

造血器細胞を含む検体試料から造血器腫瘍細胞を検出するために用いられ、

造血器細胞に特異的なプロテインチロシンホスファターゼ S H P 1 遺伝子を挟み込む 2 つのマイクロサテライト・マーカの少なくとも一方の全長またはその一部を検出する P C R 用のプライマーを含むことを特徴とする造血器腫瘍細胞検出キット。 40

【請求項 1 7】

さらに、P C R 用試薬、および、制限酵素反応用試薬の少なくとも一方を含むことを特徴とする請求項 1 4、1 5 または 1 6 に記載の造血器腫瘍細胞検出キット。

【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1 】

【発明の属する技術分野】

本発明は、造血器腫瘍細胞検出方法および該検出方法に好適に用いられる造血器腫瘍細胞検出キットに関するものであり、特に、例えば、悪性リンパ腫や白血病等に特異的なプロテインチロシンホスファターゼ S H P 1 遺伝子産物の発現減少あるいは消失またはこれを 50

コードする S H P 1 遺伝子のメチル化を検出することによって、造血器腫瘍細胞を高感度かつ高特異的に検出できる検出方法および検出キットに関するものである。

【0002】

【従来の技術】

ヒト (H o m o s a p i e n s) における悪性リンパ腫や白血病等の造血器腫瘍 (血液系の腫瘍) には、難治性で極めて予後の悪いものから比較的予後のよいものまで様々な種類が知られている。この造血器腫瘍の治療には、各種化学療法や放射線療法、あるいは免疫療法といった種々の療法がすでに実用化されているが、このような治療の結果、ほぼ腫瘍細胞が退縮したとしても、わずかに腫瘍細胞が生存していれば造血器腫瘍の再発は免れない。

10

【0003】

上記造血器腫瘍の診断は、従来では、複数の診断手法を併用することにより総合的に実施されている。具体的には、末梢血や各種生検材料を用いて、組織染色や免疫染色等による形態学的な観察や組織学的な観察が実施されたり、さらには、種々の分子生物学的解析や染色体解析等も実施されたりしている。また、上記造血器腫瘍の診断では、判定までにか

【0004】

【発明が解決しようとする課題】

上記従来の各診断手法は、それ単独では造血器腫瘍細胞を高感度、高特異的、かつ迅速に検出できるものではない。それゆえ、これら従来の診断手法では、複数を併用して総合的に判断しなければ造血器腫瘍を診断することができない。

20

【0005】

つまり、従来の診断手法を使用する限り、複数の診断手法を併用しなければならないため、診断の煩雑化を招くだけでなく時間がかかり、造血器腫瘍細胞検出感度も特異性も高いことから、医師の専門的な判断が診断に大きな比重を占めることになる。そのため、従来では、造血器腫瘍の診断技術は、実質的に医療現場での利用に限られており、各々の疾患には対応できるが、集団検診による造血器腫瘍の早期発見・早期治療を目的としては利用されていない。

【0006】

造血器腫瘍細胞をより高感度かつ高特異的に実施するには、造血器腫瘍細胞に特異的であり、かつ広い範囲の造血器腫瘍に見られる感度の高いマーカーを用いることが考えられる。このようなマーカーを用いれば、造血器腫瘍の早期発見・診断を容易かつ迅速に実施することができ、医療上、悪性リンパ腫や白血病等の早期治療や再発予防に応用することが可能となるだけでなく、臨床検査産業や医薬品産業等にも利用可能な診断技術とすることができ、産業の発展に寄与することが可能となる。しかしながら、このようなマーカーは現在までのところ知られていない。

30

【0007】

本発明は上記課題に鑑みなされたものであって、その目的は、分子生物学的知見を利用して、迅速且つ簡便に造血器腫瘍細胞を高感度かつ高特異的に微量の患者検体から検出し造血器腫瘍の早期発見・診断および早期治療を容易にし、集団検診にも適用可能な造血器腫瘍細胞検出方法および検出キットを提供することにある。

40

【0008】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題に鑑み鋭意検討した結果、広い範囲の悪性の造血器腫瘍では、プロテインチロシンホスファターゼ S H P 1 蛋白質の発現抑制が極めて高頻度で見られ、しかも悪性度の高い造血器腫瘍において、上記 S H P 1 蛋白質の発現抑制の傾向が強くなることを見出し、S H P 1 遺伝子産物およびこれをコードする S H P 1 遺伝子の双方をマーカーとして用いることで、造血器腫瘍細胞の高感度、高特異的、かつ短時間に検出でき、かつ産業上利用できる造血器腫瘍細胞検出技術を実現し得ることを見出し、本発明を完成するに至った。

50

【 0 0 0 9 】

すなわち、本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法は、上記の課題を解決するために、(1) 造血器細胞を含む検体試料中に含まれる、造血器細胞に特異的なプロテインチロシンホスファターゼ S H P 1 蛋白質および S H P 1 m R N A の少なくとも一方の発現量を定量する S H P 1 遺伝子産物定量工程、(2) 上記検体試料から得られる、S H P 1 遺伝子の塩基配列中に含まれる C p G 島のメチル化を確認する S H P 1 遺伝子メチル化確認工程、および(3) 上記検体試料に含まれる S H P 1 遺伝子の異型接合性喪失(L O H) の有無を確認する S H P 1 遺伝子 L O H 確認工程、の少なくとも一方を含むことを特徴としている。

【 0 0 1 0 】

上記 S H P 1 遺伝子産物の発現抑制は、悪性の造血器腫瘍細胞に極めて高頻度で見られるのに対し、正常な血液細胞にはこの現象が見られない。また、上記 S H P 1 蛋白質の発現抑制は、S H P 1 遺伝子のメチル化によるものである。さらに、DNAメチル化による S H P 1 遺伝子の転写抑制の前後には、S H P 1 遺伝子の一つの対立遺伝子が喪失している。

【 0 0 1 1 】

上記方法によれば、上記知見を利用して、検体試料から得られる S H P 1 遺伝子のメチル化を確認し、造血器腫瘍細胞の存在を検出することで、悪性の造血器腫瘍細胞の存在の有無をスクリーニングし、一方検体試料中の S H P 1 遺伝子産物、具体的には S H P 1 蛋白質、または S H P 1 m R N A、あるいはその両方の発現を定量する。

【 0 0 1 2 】

すなわち、上記方法では、S H P 1 遺伝子の不活性化を、遺伝子 D N A の修飾と m R N A と蛋白質と対立遺伝子の喪失という最大で四重のマーカを用いて判定できることになる。すなわち、S H P 1 遺伝子の発現低下という一つの造血器腫瘍細胞特異的な現象を 4 段階で確認することができるため、非常に高い特異性で造血器腫瘍細胞を検出することができる。

【 0 0 1 3 】

本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法の好ましい一例としては、上記 S H P 1 遺伝子メチル化確認工程に、上記検体試料から得られた遺伝子試料を、シトシンを含む塩基配列を認識するメチル化感受性制限酵素で処理する遺伝子切断試行段階と、上記メチル化感受性制限酵素で処理された遺伝子に対して、上記 S H P 1 遺伝子の塩基配列中に含まれ、上記メチル化感受性制限酵素に認識切断される塩基配列を含む領域を増幅するプライマーを用いて P C R 法を実施する遺伝子増幅試行段階と、増幅された特定のサイズの遺伝子の量を確認する遺伝子増幅量確認段階とが含まれる検出方法を挙げることができる。

【 0 0 1 4 】

上記方法によれば、メチル化感受性制限酵素を用いて検体試料から得られた遺伝子試料に含まれる S H P 1 遺伝子の切断を試みることでメチル化の有無を区別し、さらに P C R を用いて増幅してから、得られる特定サイズの P C R 産物の量を確認する。それゆえ、検体試料から微量の S H P 1 遺伝子さえ得られれば、S H P 1 遺伝子のメチル化を検出することができる。そのため、検体試料中に造血器腫瘍細胞がごく微量しか存在していなくても高い検出感度で、しかも高特異的に造血器腫瘍細胞を検出することが可能となる。

【 0 0 1 5 】

上記検出方法においては、上記プライマーが、さらに、配列番号 1 または 2 に示す塩基配列に含まれる部分塩基配列、またはこの部分塩基配列と相補性を有するポリヌクレオチドであることが好ましい。

【 0 0 1 6 】

また、上記検出方法においては、上記遺伝子増幅量確認段階では、電気泳動法を用いて特定サイズの遺伝子の量を確認することが好ましい。

【 0 0 1 7 】

さらに、上記検出方法においては、上記遺伝子切断試行段階では、メチル化感受性制限酵

10

20

30

40

50

素として、同一の塩基配列を認識するメチル化非感受性制限酵素が知られている制限酵素を用いることが好ましい。

【 0 0 1 8 】

本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法の好ましい他の一例としては、上記 S H P 1 遺伝子メチル化確認工程に、上記検体試料から得られる遺伝子試料を、重亜硫酸塩で処理する遺伝子修飾段階と、重亜硫酸塩で処理された遺伝子試料に含まれる、S H P 1 遺伝子の塩基配列中のメチル化シトシンの有無を判定するメチル化シトシン含有判定段階とが含まれる検出方法を挙げることができる。

【 0 0 1 9 】

上記方法によれば、重亜硫酸塩を用いて検体試料から得られた遺伝子試料を処理すると、塩基配列中のシトシンはウラシルに変換されるが、メチル化されたシトシンは変換されない。そのため、遺伝子修飾段階後の S H P 1 遺伝子の塩基配列中にシトシンが含まれるか否かを判定するのみで、S H P 1 遺伝子のメチル化を検出することができる。そのため、簡素なメカニズムで高特異的に造血器腫瘍細胞を検出することが可能となる。

【 0 0 2 0 】

上記検出方法においては、上記メチル化シトシン含有判定段階では、P C Rによりメチル化シトシンを検出する方法、遺伝子の塩基配列の決定によりメチル化シトシンを検出する方法、またはメチル化シトシンを含む塩基配列を識別する方法による遺伝子の処理のうち、少なくとも何れかが用いられても好ましい。

【 0 0 2 1 】

上記方法によれば、少なくとも P C Rを用いることで、検体試料から微量の S H P 1 遺伝子さえ得られれば、S H P 1 遺伝子のメチル化を検出することができる。そのため、検体試料中に造血器腫瘍細胞がごく微量しか存在していなくても高い検出感度で高特異的に造血器腫瘍細胞を検出することが可能となる。

【 0 0 2 2 】

上記検出方法においては、上記遺伝子修飾段階では、重亜硫酸塩として、重亜硫酸ナトリウムが用いられることが好ましい。また、上記遺伝子修飾段階では、重亜硫酸塩とともに尿素が併用されてもよい。

【 0 0 2 3 】

本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法においては、上記何れの例の検出方法であっても、上記 S H P 1 遺伝子産物定量工程では、S H P 1 蛋白質を抗原とする S H P 1 抗体を用いて S H P 1 蛋白質を定量すると好ましい。具体的には、上記 S H P 1 遺伝子産物定量工程では、酵素抗体法（免疫組織化学法、免疫細胞化学法、E L I S A (e n z y m e - l i n k e d i m m u n o s o r b e n t a s s a y) 法）またはウエスタンブロッティング法により S H P 1 蛋白質が定量されると好ましい。

【 0 0 2 4 】

上記方法によれば、抗原抗体反応を利用して S H P 1 蛋白質を定量することになるので、簡素なメカニズムで高特異的に造血器腫瘍細胞を検出することが可能となる。

【 0 0 2 5 】

あるいは、本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法においては、上記何れの例の検出方法であっても、上記 S H P 1 遺伝子産物定量工程では、配列番号 3 に示す S H P 1 遺伝子 c D N A の塩基配列の全長またはその一部を検出するポリヌクレオチドを用いて S H P 1 遺伝子の m R N A の発現を検出することにより、S H P 1 m R N A を定量しても好ましい。具体的には、上記 S H P 1 遺伝子産物定量工程では、ノーザンブロッティング法、逆転写 P C R 法、リアルタイム逆転写 P C R 法、または R N A i n s i t u ハイブリダイゼーション法により S H P 1 遺伝子の m R N A の発現が検出されると好ましい。

【 0 0 2 6 】

上記方法によれば、S H P 1 遺伝子産物として S H P 1 遺伝子の m R N A により S H P 1 遺伝子産物を定量することになるので、S H P 1 遺伝子の c D N A と相同性を有するオリゴペプチドをプローブやプライマーとして利用することで、簡素なメカニズムで高特異

的かつ高感度に造血器腫瘍細胞を検出することが可能となる。

【0027】

本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法の好ましいさらに他の一例としては、異型接合性喪失の有無の確認は、上記SHP1遺伝子を挟み込む2つのマイクロサテライト・マーカの少なくとも一方、または、上記SHP1遺伝子中か、その近辺に存在する単一塩基多型のような遺伝子多型を、PCRを用いたフラグメント解析することにより実施される方法を挙げることができる。このとき用いられる検体試料は、造血器細胞を含む検体試料であればよい。また、対照としては、血液学的完全寛解後に得られる検体を用いてもよい、他の正常組織細胞を用いてもよい。

【0028】

上記の方法によれば、マイクロサテライト・マーカまたは単一塩基多型(SNP)等の遺伝子多型の異型接合性喪失をPCRにより確認することによって、SHP1遺伝子の異型接合性喪失を確認しているのので、簡素なメカニズムでより確実に造血器腫瘍細胞を検出することが可能となる。

【0029】

本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出キットの好ましい一例としては、造血器細胞を含む検体試料から造血器腫瘍細胞を検出するために用いられ、(1)造血器細胞に特異的なプロテインチロシンホスファターゼSHP1蛋白質を抗原とするSHP1抗体、および、(2)シトシンを含む塩基配列を認識するメチル化感受性制限酵素と、SHP1遺伝子の塩基配列中に含まれ、上記メチル化感受性制限酵素に認識切断される塩基配列を含む領域を増幅するPCR用のプライマーと、上記SHP1遺伝子のメチル化陽性及びメチル化陰性対照DNAとのうち、少なくとも一方を含む構成を挙げることができる。

【0030】

あるいは、本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出キットの好ましい他の一例としては、造血器細胞を含む検体試料から造血器腫瘍細胞を検出するために用いられ、(1)上記SHP1抗体、および(2)遺伝子処理レベルまで精製された重亜硫酸塩と、該重亜硫酸塩で処理された遺伝子試料に含まれるSHP1遺伝子の塩基配列中のシトシンの有無の判定用プライマー、および、(3)配列番号3に示すSHP1遺伝子cDNAの塩基配列の全長またはその一部と相同性を持つPCR用のプライマーのうち、少なくとも何れか一つを含む構成を挙げることができる。

【0031】

さらには、本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出キットの好ましいさらに他の一例としては、造血器細胞を含む検体試料から造血器腫瘍細胞を検出するために用いられ、造血器細胞に特異的なプロテインチロシンホスファターゼSHP1遺伝子を挟み込む2つのマイクロサテライト・マーカの少なくとも一方の全長またはその一部を検出するPCR用のプライマーを含む構成を挙げることができる。

【0032】

上記造血器腫瘍細胞検出キットにおいては、さらに、PCR用試薬、および、制限酵素反応用試薬の少なくとも一方を含むことが好ましい。

【0033】

上記何れの構成であっても、前述した造血器腫瘍細胞検出方法を実施するために好ましい薬剤や標本等が含まれている。そのため、上記検出キットを用いることで、本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法を容易かつ迅速に実施することができ、本発明を臨床検査産業や医薬品産業等の産業レベルで利用することが可能となる。

【0034】

【発明の実施の形態】

【実施の形態1】

本発明における実施の一形態について図1ないし図24に基づいて説明すれば以下の通りである。なお、本発明はこれに限定されるものではない。

【0035】

10

20

30

40

50

本発明は、造血器細胞を含む検体試料中に含まれる、造血器細胞に特異的なプロモーターからのプロテインチロシンホスファターゼ S H P 1 遺伝子産物すなわち S H P 1 蛋白質と m R N A とを定量するとともに、上記検体試料から得られる、S H P 1 遺伝子の塩基配列中に含まれる C p G 島のメチル化を確認することで、上記検体試料中から造血器腫瘍細胞を検出する技術である。

【 0 0 3 6 】

本発明で、造血器腫瘍細胞を検出するためのマーカーとして用いられる S H P 1 遺伝子は、染色体 1 2 p 1 3 に存在し、図 1 ～図 1 0 および配列番号 1 に示す塩基配列をゲノム D N A (ワイルドタイプ) のセンス鎖とし、図 1 1 ～図 2 0 および配列番号 2 に示す塩基配列をアンチセンス鎖とする 1 6 のエキソン (図および配列表中大文字で示す領域) を有する遺伝子である。その c D N A は、図 2 1 および配列番号 3 に示す塩基配列を有する約 1 . 8 k b のサイズを有している。なお、S H P 1 遺伝子は S H - P T P 1 , P T P 1 C , H C P , H C P H , P T P N 6 , H P T P 1 C , S H P - 1 L と同一の遺伝子である。

10

【 0 0 3 7 】

上記 S H P 1 遺伝子にコードされている S H P 1 蛋白質は、分子量 6 8 k D で、各種造血器細胞に特異的なプロテインチロシンホスファターゼ (P T P a s e) であり、図 2 2 に示すように、N 末端側にタンデム構造となる 2 つの S H 2 (S r c h o m o l o g y d o m a i n 2) 領域 (2 7 0 アミノ酸残基) と、2 4 6 アミノ酸残基の P T P a s e ドメインと、9 3 アミノ酸残基の C 末端側領域とを有する構造となっている。また、図 2 3 および配列番号 4 に示すアミノ酸配列を有している。

20

【 0 0 3 8 】

ヒトの造血器腫瘍、例えば悪性リンパ腫や白血病では、多くの種類で 9 0 % 以上の高い頻度で S H P 1 蛋白質の強い発現抑制が見られる (例えば、A m e r i c a n J o u r n a l o f P a t h o l o g y , V o l . 1 5 9 , N o . 4 , O c t o b e r 2 0 0 1 : 1 4 9 5 - 1 5 0 5 等参照)。このように悪性の造血器腫瘍細胞では、上記 S H P 1 蛋白質の発現抑制が極めて高頻度で見られるのに対し、正常な血液細胞にはこの現象が見られない。

【 0 0 3 9 】

本発明者らは、上記 S H P 1 蛋白質の発現抑制が、上記 S H P 1 遺伝子がメチル化されることによる転写異常を原因とすることを独自に見出した。

30

【 0 0 4 0 】

例えば、図 2 4 に示すように、図 1 ～図 1 0 および配列番号 1 に示すゲノム D N A (ワイルドタイプ) のセンス鎖 (1 8 1 塩基 ～ 2 1 6 0 塩基まで例示) において、1 0 0 1 塩基 ～ 1 1 6 3 塩基のエキソン (図中大文字) の前にプロモーター領域が存在するが、この近傍にシトシン (C) とグアニン (G) とが並ぶ C G 配列が多く存在し C p G 島 (C p G i s l a n d) を形成している (図 2 4 中では C G 配列を太字の網掛けで示す)。正常な造血器細胞では、この C p G 島のシトシンはメチル化されていないが、例えば悪性のリンパ腫細胞では、上記 C G 配列のシトシンの多くがメチル化されている。勿論、この C G 配列におけるシトシンのメチル化はセンス鎖のみならずアンチセンス鎖にも同じように生じる。

40

【 0 0 4 1 】

上記 C p G 島における C G 配列の高度なメチル化は、S H P 1 遺伝子の D N A から m R N A の転写を阻害し、その結果、S H P 1 蛋白質の生産が抑制される。この現象は、上述したように造血器腫瘍細胞では極めて高頻度に見られる。しかも、各種造血器腫瘍患者の完全寛解期には、S H P 1 遺伝子における D N A のメチル化が完全に消失し、分子生物学上の知見と臨床上の知見との間に非常に高い相関関係が見られる。それゆえ、メチル化による S H P 1 遺伝子の発現抑制が、造血器腫瘍細胞の発症機構の中で重要な役割を果たしていることが推測される。そこで本発明では、上記 S H P 1 遺伝子の発現抑制という現象を、造血器腫瘍細胞のマーカーとして利用する。

【 0 0 4 2 】

50

さらに、本発明者らは、悪性リンパ腫や白血病等の疾患が発症する際に、上述した、DNAメチル化によってSHP1遺伝子の転写抑制が生じる前後に、SHP1遺伝子の一つの対立遺伝子が喪失することも独自に見出した。そこで、SHP1遺伝子の異型接合性喪失を確認することによって、SHP1遺伝子の対立遺伝子の喪失を確認することが可能となる。それゆえ、SHP1遺伝子の異型接合性喪失も造血器腫瘍細胞のマーカーとして利用することができる。

【 0 0 4 3 】

悪性リンパ腫や白血病において、SHP1遺伝子には、高頻度のDNAメチル化、高頻度の異型接合性喪失、SHP1遺伝子の発現の低下または消失が検出され、さらには、外来SHP1遺伝子導入が血球系の細胞の増殖を抑制する傾向にある。これにより、SHP1 10
遺伝子が癌抑制遺伝子の一つであることが強く示唆される。

【 0 0 4 4 】

そこで、本発明では、SHP1遺伝子メチル化確認工程で、上記検体試料から得られるSHP1遺伝子の塩基配列中に含まれるCpG島のメチル化を確認し、SHP1遺伝子産物定量工程にて、造血器細胞を含む検体試料中に含まれるSHP1蛋白質およびmRNAの少なくとも一方を定量し、さらに、SHP1遺伝子LOH確認工程で、SHP1遺伝子の異型接合性喪失を確認するという三つの工程を利用する。これら工程は単独で用いられても良いし、双方ともに用いられても良い。さらに、SHP1遺伝子産物定量工程では、SHP1蛋白質のみ定量されても良いし、SHP1mRNAのみ検出されても良いし、双方ともに検出されてもよい。 20

【 0 0 4 5 】

これによって、例えば、まず、検体試料中のSHP1遺伝子のメチル化を検出することでスクリーニングし、その後、検体試料のSHP1遺伝子産物の発現をSHP1mRNAおよびSHP1蛋白質の少なくとも一方で定量することで、悪性の造血器腫瘍細胞の有無を確認することで造血器腫瘍細胞の存在を確定するという検出プロセスを実施することができる。

【 0 0 4 6 】

したがって、本発明では、SHP1遺伝子の発現を、遺伝子DNAの修飾とmRNAと蛋白質と対立遺伝子の喪失という最大で四重のマーカーを用いて判定できることになる。すなわち、SHP1遺伝子の発現低下という一つの造血器腫瘍細胞特異的な現象を3段階で 30
確認することができるため、非常に高い特異性で造血器腫瘍細胞を検出することができる。

【 0 0 4 7 】

また、上述したように、本発明におけるSHP1遺伝子を導入することで、血球系の細胞の増殖を抑制する傾向にあることも確認されている。それゆえ、SHP1遺伝子は、遺伝子治療に用いることも可能であり、例えば、腫瘍細胞にSHP1遺伝子の発現ベクターをトランスフェクトすることにより、腫瘍細胞の増殖を抑制することが期待できる。

【 0 0 4 8 】

本発明で用いられる検体試料は、末梢血あるいは骨髓液等の造血器細胞を含む検体試料であればどのような検体試料であっても特に限定されるものではない。本発明における造血器細胞とは、各種血液細胞を含むが、特に好ましくは各種白血球が挙げられる。より具体的には、リンパ球（T細胞・B細胞）、顆粒球（好中球、好酸球、好塩基球）、単球並びにマクロファージ、マスト細胞、ナチュラルキラー細胞等を挙げることができる。あるいは造血幹細胞やリンパ球幹細胞であってもよい。 40

【 0 0 4 9 】

したがって、本発明で用いられる検体試料には、上記造血器細胞が含まれている血液や骨髓液あるいは体液等をヒトから採取し、これをそのまま検体試料として用いてもよいし、採取した血液や体液に対して従来公知の処理を施すことによって、分子生物学的な分析を実施し易い分析用検体試料としてもよい。

【 0 0 5 0 】

本発明が適用可能な造血器腫瘍としては、具体的には、例えば、慢性骨髄性白血病、フィラデルフィア染色体ポジティブ（+（9；22）（q q 3 4；q 1 1）, B C R / A B L）慢性骨髄性白血病、慢性好中球白血病、慢性好酸球白血病／高好酸球症候群、慢性突発性骨髄繊維症、真性多血症、本態性血小板増加症、その他分類できない骨髄増殖性疾患等の各種骨髄増殖性疾患；

慢性骨髄性単球白血病、非定型慢性骨髄性白血病、幼年性骨髄性単球白血病等の骨髄異型性／骨髄増殖性疾患；

環状鉄芽球を伴う難治性貧血、環状鉄芽球を伴わない難治性貧血、多系列異形成を伴う難治性血球減少症（骨髄異型性症候群）、過剰芽球5 q -症候群を伴う難治性貧血（骨髄異型性症候群）、その他分類できない骨髄異型性症候群等の骨髄異型性症候群；

再発性細胞遺伝学的転座を伴う急性骨髄性白血病（A M L）（例えば、+（8；21）（q 2 2；q 2 2）を伴うA M L、A M L 1（C B F - α）／E T O、急性前骨髄性白血病（+（15；17）（q 2 2；q 1 1-12）を伴うA M Lおよびその変形、P M L / R A R - α）、異常な骨髄好酸球（i n v（16）（p 1 3 q 2 2）あるいは+（16；16）（p 1 3；q 1 1）、C B F β / M Y H 1 1 X）を伴うA M L、1 1 q 2 3（M L L）異常を伴うA M L、前骨髄異型性症候群を伴いかつ多系列異形成を伴うA M L、前骨髄異型性症候群を伴いかつ多系列異形成を伴わないA M L、治療に関係するA M Lおよび骨髄異型性症候群（アルキル化剤に関係する治療、エピポドフィロトキシンに関係する治療、あるいはその他のタイプの治療）、他に部門に属さないA M L（低分化型、成熟を伴わないもの、成熟を伴うもの、急性骨髄性単球白血病、急性単球白血病、急性赤芽球白血病、急性巨核球白血病、急性好塩基球白血病、骨髄繊維症を伴う急性汎骨髄過剰増殖症）、急性二形質性白血病等の急性骨髄性白血病（A M L）；

前駆体B細胞性腫瘍（前駆体B - リンパ芽球性白血病／リンパ腫（前駆体B細胞急性リンパ芽球性白血病）、成熟（末梢）B細胞性腫瘍（B細胞慢性リンパ球性白血病／小リンパ球性リンパ腫、B細胞前リンパ球性白血病、リンパ形質細胞性リンパ腫、脾辺縁領域B細胞リンパ腫（+ / - 絨毛リンパ球）、毛状細胞白血病、形質細胞性骨髄腫（形質細胞腫）、M A L T型節外辺縁型B細胞リンパ腫、節性辺縁型B細胞リンパ腫（+ / - 単球型B細胞）、濾胞性リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、びまん性大型B細胞リンパ腫（縦隔大細胞B細胞リンパ腫、原発性滲出リンパ腫）、B u r k i t t リンパ腫／B u r k i t t 細胞白血病）等のB細胞性腫瘍；

前駆体T細胞性腫瘍（前駆体T - リンパ芽球性白血病／リンパ腫（前駆体T細胞急性リンパ芽球性白血病）、成熟（末梢）T細胞性腫瘍（T細胞前リンパ球性白血病、T細胞顆粒リンパ球白血病、侵襲型N K細胞白血病、成人T細胞リンパ腫・白血病（H T L V 1 +）、鼻型節外性N K / T細胞リンパ腫、腸管症型T細胞リンパ腫、肝脾型γ - δ T細胞リンパ腫、皮下蜂窩織炎様T細胞リンパ腫、菌状息肉腫／S e z a r y症候群、退形成性大型細胞リンパ腫（T / ヌル細胞、原発性皮膚未分化型）、他に部門に属さない末梢T細胞リンパ腫、血管免疫芽球T細胞リンパ腫）等のT細胞およびN K細胞性腫瘍；

節性リンパ球優勢ホジキンリンパ腫、古典的ホジキンリンパ腫（結節硬化ホジキンリンパ腫（等級1および2）、リンパ球リッチ古典的ホジキンリンパ腫、混合細胞型ホジキンリンパ腫、リンパ球枯渇ホジキンリンパ腫）等のホジキンリンパ腫（ホジキン病）；

等を挙げることができるが、特に限定されるものではない。

【 0 0 5 1 】

本発明におけるS H P 1遺伝子産物定量工程は、検体試料中のS H P 1蛋白質およびS H P 1 m R N Aの少なくとも一方を定量できる方法であれば特に限定されるものではないが、具体的には、S H P 1蛋白質を抗原とするS H P 1抗体を用いてS H P 1蛋白質を定量する方法（蛋白質定量法）か、S H P 1遺伝子のm R N Aの発現を検出することにより、S H P 1 m R N Aを定量する方法（m R N A定量法）を好適に用いることができる。

【 0 0 5 2 】

まず、上記蛋白質定量法のより具体的な手法としては、S H P 1抗体を用いたウエスタンブロッティング法または酵素抗体法（I m m u n o c h e m i s t r y）（免疫組織化学

10

20

30

40

50

法、免疫細胞化学法、E L I S A (e n z y m e - l i n k e d i m m u n o s o r b e n t a s s a y) 法) を挙げることができる。

【 0 0 5 3 】

上記蛋白質定量法で用いられるSHP1抗体は、図22、図23および配列番号4に示す構造を有するSHP1蛋白質の少なくとも一部の構造を抗原決定基として認識し、SHP1蛋白質を免疫学的に確実に検出できる抗体であれば特に限定されるものではなく、ポリクローナル抗体であってもよいし、モノクローナル抗体であってもよい。

【 0 0 5 4 】

上記SHP1抗体は、従来公知の方法で製造してもよいし、市販のSHP1抗体を用いてもよい。SHP1抗体の製造方法としては、例えば、モノクローナル抗体であれば、SHP1蛋白質で免疫したマウス脾臓リンパ球とマウスの骨髓細胞とを融合させてなるハイブリドーマにより産生する手法が挙げられる。また、上記SHP1抗体がポリクローナル抗体であれば、SHP1蛋白質で免疫したウサギの免疫血清から精製する手法が挙げられる。また、市販のSHP1抗体としては、#SH-PTP1(D-11): sc7289および#SH-PTP1(C-19): sc287 (Santa Cruz Biotechnology Inc. 製)、#anti SHPTP(06117)および#anti mouse SHPTP(05281) (Upstate Biotechnology Inc. 製) 等が挙げられる。

【 0 0 5 5 】

上記SHP1抗体を用いた酵素抗体法(免疫組織化学法、免疫細胞化学法、ELISA法)は、従来公知の方法(例えば、『酵素抗体法』渡辺慶一・中根一穂編集、学際企画出版(昭和61年)や、Brown R. W. et al: Modern Pathol. 199; 8(5): 515-20(1995)等の文献に開示されている方法)を好適に用いることができ、その具体的な工程や試薬類、条件等は特に限定されるものではない。

【 0 0 5 6 】

同様に、上記SHP1抗体を用いたウエスタンブロッティング法も、従来公知の方法(例えば、『実験操作ブロッティング法』日野嘉幸他編、ソフトサイエンス社(昭和62年)や、Towbin H. et al: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 4350, (1979)等の文献に開示されている方法)を好適に用いることができ、その具体的な工程や試薬類、条件等は特に限定されるものではない。

【 0 0 5 7 】

上記蛋白質定量法を用いることで、抗原抗体反応を利用してSHP1蛋白質を定量することになる。そのため、簡素なメカニズムで高特異的に造血器腫瘍細胞を検出することが可能となる。

【 0 0 5 8 】

次に、上記mRNA定量法のより具体的な手法としては、配列番号3(図21参照)に示すSHP1遺伝子cDNAの塩基配列の全長またはその一部と相同性を有するポリヌクレオチドを用いてSHP1遺伝子のmRNAの発現を検出する方法が挙げられ、より具体的には、ノーザンブロッティング法、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応法(RT-PCR)、リアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応法(real time RT-PCR)、またはRNA in situハイブリダイゼーションを挙げることができる。

【 0 0 5 9 】

上記ノーザンブロッティング法、RT-PCR、real time RT-PCR、およびRNA in situハイブリダイゼーションの何れの方法も従来公知の方法(例えば、"Molecular cloning" a laboratory manual, Sambrook J., Russell DW., Cold Spring Harbor Lab Press. (2001)や、"Current protocols in molecular biology" edited by Ausubel FM et al., John Wiley & Sons Inc. (2000)等)を用いることができる。

001) 等の文献に開示されている方法)を好適に用いることができ、その具体的な工程や試薬類、条件等は特に限定されるものではない。

【0060】

上記ノーザンブロッティング法やRNA in situ ハイブリダイゼーションでは、原理的には、配列番号3に示すSHP1遺伝子のcDNAの全長あるいはその一部をプローブとして用いることができる。また、RT-PCRやreal time RT-PCRでも、原理的には、配列番号3に示すSHP1遺伝子のcDNAの一部と相同性を有するオリゴヌクレオチドをプライマーとして用いることができる。具体的には、例えば、後述する実施例3や実施例4に示すプライマーペアを用いることができる。

【0061】

それゆえ、mRNA定量法では、配列番号3に示すSHP1遺伝子cDNAの塩基配列の全長またはその一部と相同性を有するポリヌクレオチドを用いてSHP1遺伝子のmRNAの発現を検出すればよい。

10

【0062】

上記mRNA定量法を用いることで、SHP1遺伝子の転写産物であるSHP1mRNAを定量することになるので、SHP1遺伝子のcDNAと相同性を有するポリヌクレオチドをプローブやプライマーとして利用することで、簡素なメカニズムで迅速、高特異的かつ高感度に造血器腫瘍細胞を検出することが可能となる。

【0063】

本発明におけるSHP1遺伝子メチル化確認工程は、検体試料から得られるSHP1遺伝子の塩基配列中に含まれるCpG島のメチル化を確認できる方法であれば特に限定されるものではないが、本実施の形態では、例えば、遺伝子切断試行段階と、遺伝子増幅試行段階と、遺伝子増幅量確認段階とを含むメチル化感受性制限酵素を利用した方法(以下、説明の便宜上、制限酵素確認法と称する)を好適に用いることができる。

20

【0064】

本実施の形態で用いられるメチル化感受性制限酵素とは、二本鎖DNAにおいて認識対象となる塩基配列にシトシンを含んでおり、かつ、この塩基配列中のシトシンがメチル化された場合には、該塩基配列の二本鎖DNAを切断できない制限酵素であれば特に限定されるものではない。

【0065】

上記メチル化感受性制限酵素としては、具体的には、例えば、HpaII、EagIまたはNaeI等を挙げることができる。中でも、HpaIIをより好ましく用いることができる。HpaIIは、CCGGの塩基配列を認識して二本鎖DNA切断するエンドヌクレアーゼであるが、同じ塩基配列を認識して二本鎖DNAを切断する制限酵素として、MspIが知られている。

30

【0066】

上述したように、HpaIIはメチル化されたCCGGの塩基配列の二本鎖DNAを切断できないが、MspIはメチル化の有無に関わらずCCGGの塩基配列を認識して二本鎖DNAを切断することが可能である。すなわち、MspIはメチル化非感受性制限酵素である。それゆえ、HspIIとMspIとを併用することで、後述するように、検体試料中のSHP1遺伝子の切断を確実に確認するためのコントロールとして利用することが可能になり、本実施の形態における制限酵素確認法の信頼性をより一層向上させることができる。

40

【0067】

このように、本実施の形態における制限酵素確認法では、使用するメチル化感受性制限酵素と同じ塩基配列を認識するメチル化非感受性制限酵素をコントロールとして使用することが好ましい。勿論、メチル化感受性およびメチル化非感受性制限酵素の組み合わせは上記HspII・MspIに限定されるものではないことは言うまでもない。

【0068】

次に、本実施の形態におけるSHP1遺伝子メチル化確認工程、すなわち制限酵素確認法

50

による S H P 1 遺伝子のメチル化の確認について具体的に説明する。

【 0 0 6 9 】

まず、遺伝子切断試行段階として、造血器細胞を含む前記検体試料から得られた遺伝子試料を、シトシンを含む塩基配列を認識する上記メチル化感受性制限酵素で処理する。この段階では、メチル化感受性制限酵素の処理により遺伝子試料中に含まれる S H P 1 遺伝子の切断を試みる。すなわち、前記検体試料中に含まれる造血器細胞が正常な細胞のみであれば、S H P 1 遺伝子は切断されるが、造血器腫瘍細胞が含まれていれば、S H P 1 遺伝子は C G 配列がメチル化されているため切断されない。

【 0 0 7 0 】

前記検体試料から遺伝子試料を調製する方法は従来公知の方法を用いることができ特に限定されるものではない。また、調製された遺伝子試料は、S H P 1 遺伝子を含んでいればよく、制限酵素処理や P C R 等を阻害しない限り他の成分が含まれていても良い。それゆえ、前記検体試料中に含まれる造血器細胞やその他の細胞から抽出される各種 D N A や R N A の混合物であればよい。また、メチル化感受性制限酵素による処理についても特に限定されるものではなく、該メチル化感受性制限酵素の種類や調製された遺伝子試料の状態等に応じて、適宜条件等を設定すればよい。

【 0 0 7 1 】

次に、遺伝子増幅試行段階として、上記メチル化感受性制限酵素で処理された遺伝子試料に対して、上記 S H P 1 遺伝子の塩基配列中に含まれ、上記メチル化感受性制限酵素に認識切断される塩基配列を含む領域を増幅するプライマーを用いて、P C R を実施する。この段階では、メチル化感受性制限酵素で処理した制限酵素処理物を、上記プライマーを用いて P C R 処理することにより、S H P 1 遺伝子のみの増幅を試みる。正常な S H P 1 遺伝子のみであれば、プライマーペアに挟まれる領域が切断されているため S H P 1 遺伝子は増幅できないが、メチル化されている S H P 1 遺伝子が含まれていれば、上記プライマーペアに挟まれる領域は切断されていないため S H P 1 遺伝子が増幅される。

【 0 0 7 2 】

上記遺伝子増幅試行段階で用いられる上記プライマーとしては、メチル化感受性制限酵素に認識される塩基配列を含む領域を増幅するポリヌクレオチドであればよい。それゆえプライマーの設計条件等についても特に限定されるものではない。基本的には、本実施の形態で用いられるプライマーペアは、メチル化感受性制限酵素に認識される上記塩基配列を含む領域の少なくとも外側に位置し、配列番号 1 または 2 (図 1 ~ 図 1 0 および図 1 1 ~ 図 2 0 参照) に示す S H P 1 遺伝子の塩基配列に含まれる部分塩基配列、またはこの部分塩基配列と相補性を有するポリヌクレオチドであればよく、その場所やサイズ等については特に限定されるものではない。

【 0 0 7 3 】

次に、遺伝子増幅量確認段階として、増幅された遺伝子の量を確認する。この段階では、S H P 1 遺伝子が増幅されたか否かを確認する。S H P 1 遺伝子が増幅されれば、元の検体試料中に造血器腫瘍細胞が含まれていることになる。

【 0 0 7 4 】

上記遺伝子増幅量確認段階で用いられる S H P 1 遺伝子の有無の確認方法としては特に限定されるものではないが、電気泳動法を用いてマーカーと比較することにより遺伝子の増幅量を確認する手法が最も一般的で確立された手法であるため好ましく用いることができる。また、電気泳動後に得られた D N A バンドをメンブレンにブロッティングして検出してもよい。

【 0 0 7 5 】

上記遺伝子増幅量確認段階で用いられる S H P 1 遺伝子の有無の確認方法としては特に限定されるものではないが、検体試料と同時にメチル化陽性およびメチル化陰性対照 D N A を用いて反応を行った後電気泳動法を用いて遺伝子の増幅量を確認する手法が最も一般的で確立された手法であるため好ましく用いることができる。また、電気泳動後に得られた D N A バンドをメンブレンにブロッティングして検出してもよい。

【 0 0 7 6 】

上記 S H P 1 遺伝子のメチル化陽性およびメチル化陰性対照 D N A は、S H P 1 遺伝子を用いたものであればよく、特に限定されるものではない。具体的には、メチル化感受性制限酵素またはメチル化非感受性制限酵素により処理することで得られる、増幅量を比較できる程度の濃度を有する D N A 溶液を挙げることができる。

【 0 0 7 7 】

さらに、制限酵素確認法による S H P 1 遺伝子メチル化確認工程では、コントロールとして、メチル化感受性制限酵素による処理と並行して、同一の検体試料をメチル化非感受性制限酵素で処理して、それを遺伝子増幅量確認段階で確認すると好ましい。すなわち、上記遺伝子切断試行段階では、メチル化感受性制限酵素として、同一の塩基配列を認識するメチル化非感受性制限酵素が知られている制限酵素を用いることが非常に好ましい。これによって、制限酵素確認法による S H P 1 遺伝子のメチル化の確実性を高めることができる。

【 0 0 7 8 】

本発明における S H P 1 サテライト L O H 確認工程は、造血器細胞を含む検体試料において、この検体試料に含まれる S H P 1 遺伝子の異型接合性喪失 (L o s s o f h e t e r o z y g o s i t y , L O H と略す) の有無を確認することができる方法であれば特に限定されるものではないが、具体的には、S H P 1 遺伝子を挟み込むマイクロサテライト・マーカー、または、上記 S H P 1 遺伝子中か、その近辺に存在する単一塩基多型 (s i n g l e n u c l e o t i d e p o l y m o r p h i s m , S N P) のような遺伝子多型 (p o l y m o r p h i s m) について、P C R を用いたフラグメント解析によって L O H を確認する方法を好適に用いることができる。

【 0 0 7 9 】

上記 S H P 1 遺伝子の両側に存在するマイクロサテライト・マーカーや、S H P 1 遺伝子中またはその近辺に存在する遺伝子多型については、特に限定されるものではなく、どのようなマーカーを用いてもよいが、具体的には、例えば、D 1 2 S 3 3 6 マーカーおよび D 1 2 S 3 5 6 マーカーを挙げることができる。これらマーカーの塩基配列は、インターネット・ゲノム・データベース (U R L : h t t p : / / g d b w w w . g d b . o r g . /) から得られる。これらマーカーのうち、D 1 2 S 3 5 6 マーカーはテロメア側に存在し、S H P 1 遺伝子から約 4 . 4 c M の距離にある。一方、D 1 2 S 3 3 6 マーカーはセントロメア側に存在し、S H P 1 遺伝子から約 2 . 4 c M の距離にある。

【 0 0 8 0 】

検体試料における S H P 1 遺伝子の L O H (異型接合性喪失) の確認に際しては、S H P 1 サテライト L O H 確認工程で用いられる検体試料は、造血器細胞を含む検体試料となっていればよい。また、L O H の具体的な方法は特に限定されるものではないが、後述する実施例 6 に示すように、P C R 反応によって上記各マーカーの少なくとも一方の全長またはその一部を検出するマイクロサテライト解析を行えばよい。このときの P C R 反応他の条件も特に限定されるものではなく、P C R 用のプライマーとしては、例えば、D 1 2 S 3 3 6 マーカーまたは D 1 2 S 3 5 6 マーカーの少なくとも一部を検出できるようなプライマーであればよく、その他の条件についても適切な条件を適宜設定すればよい。

【 0 0 8 1 】

本発明における S H P 1 サテライト L O H 確認工程で用いられる検体試料は、造血器細胞を含む検体試料であれば特に限定されるものではない。また、対照として用いる検体試料も特に限定されるものではなく、血液学的完全寛解後に得られる検体を用いてもよいし、他の正常組織細胞を用いてもよい。

【 0 0 8 2 】

このように、マイクロサテライト・マーカーや S N P 等の遺伝子多型を利用して S H P 1 遺伝子の L O H を確認することで、簡素なメカニズムでより確実に造血器腫瘍細胞を検出することが可能となる。

【 0 0 8 3 】

なお、本実施の形態では、SHP1遺伝子のLOHを、マイクロサテライト・マーカーや遺伝子多型を利用して確認した例を挙げているが、本発明はこれに限定されるものではなく、SHP1遺伝子のLOHが確認できる方法であればどのような方法でもよいことは言うまでもない。

【0084】

次に、本実施の形態にかかる検出方法の好ましい一例について、より具体的に説明する。

【0085】

まず、SHP1遺伝子産物定量工程により、前述した手法を用いて検体試料中に含まれるSHP1蛋白質およびSHP1 mRNAの少なくとも一方を定量する。このプロセスで定量されたSHP1蛋白質が、標準よりも大幅に減少していたり、ほとんどSHP1遺伝子産物が発現していなかったりした場合には、検体試料中に造血器腫瘍細胞が含まれている可能性が高くなる。

【0086】

次に、SHP1遺伝子メチル化確認工程で、前記制限酵素確認法により、検体試料から調製した遺伝子試料中のSHP1遺伝子の塩基配列中に含まれるCpG島のメチル化を確認する。以下の説明では、メチル化感受性制限酵素として前記HpaIIを用いた例を挙げる。HpaIIは、前述したようにCCGGの塩基配列を認識するが、同じ塩基配列を、メチル化非感受性制限酵素MspIも認識するため、好ましく用いられる。

【0087】

そこで、遺伝子切断試行段階では、上記検体試料から得られた遺伝子試料を、HpaIIで処理する。同時に、同一の遺伝子試料をMspIで処理すると好ましい。これによって、CCGG塩基配列が切断されるというポジティブコントロールを得ることができる。

【0088】

次に、遺伝子増幅試行段階に移行するが、このステップでは、先に、SHP1遺伝子の塩基配列（配列番号1および2、図1～図10および図11～図20参照）から、HpaII/MspIの認識部位（CCGG）を挟んでPCR用のプライマーを設定する。具体的には、例えば、後述する実施例1や実施例2に示すプライマーペアを用いる。

【0089】

上記のようなプライマーを用いて、HpaIIで処理された遺伝子試料に対してPCRを実施し、遺伝子増幅量確認段階で、例えば電気泳動によりPCR産物の増幅量を確認する。遺伝子試料中に、メチル化されたSHP1遺伝子があれば、HpaIIは切断できないので、PCRにより目的のサイズのPCR産物が検出できる。一方、メチル化されたSHP1遺伝子が無ければ、HpaIIによりDNAが切断されPCR産物は検出できない。

【0090】

このように、上記制限酵素確認法を用いれば、メチル化感受性制限酵素を用いて検体試料から得られた遺伝子試料に含まれるSHP1遺伝子の切断を試み、さらにPCRを用いて増幅してから、得られるPCR産物の増幅量を確認することができる。それゆえ、検体試料から微量のSHP1遺伝子さえ得られれば、SHP1遺伝子のメチル化を検出することが可能である。そのため、検体試料中に造血器腫瘍細胞がごく微量しか存在していなくても迅速に高い検出感度で、しかも高特異的に造血器腫瘍細胞を検出することが可能となる。

【0091】

なお、本実施の形態で説明した上記検出方法には、他の工程（プロセス）や他の段階（ステップ）が含まれていてもよいことは言うまでも無い。例えば、SHP1遺伝子メチル化確認工程において、制限酵素反応やPCR反応を円滑に進めるために、得られた遺伝子試料等を精製する精製段階が含まれていてもよい。

【0092】

本発明には、上述した造血器腫瘍細胞検出方法だけでなく、該検出方法を実施するための検出キットが含まれる。具体的には、前記SHP1抗体、前記メチル化感受性制限酵素、前記各プライマー、前記SHP1遺伝子陽性およびメチル化陰性対照DNA等を含む構成

を挙げることができる。特に、(1) 上記 S H P 1 抗体、および (2) メチル化感受性制限酵素と、P C R 用プライマーと、前記 S H P 1 遺伝子陽性およびメチル化陰性対照 D N A との組み合わせに分けた場合には、(1) および (2) の少なくとも一方が含まれていると好ましい。また、S H P 1 遺伝子産物定量工程と S H P 1 遺伝子メチル化確認工程の順番はどちらが先であっても良い。

【 0 0 9 3 】

さらに、上記検出キットには、必要に応じて、他の各種試薬類が含まれていてもよい。例えば、ヌクレオチドモノマー、ポリメラーゼ、バッファー等の P C R 反応用試薬、および、バッファー等の制限酵素反応用試薬の少なくとも一方が含まれていてもよい。

【 0 0 9 4 】

より具体的に、各工程または段階ごとに用いられる試薬等について説明する。まず、遺伝子産物定量工程では、蛋白質定量法の場合、酵素抗体法およびウエスタンブロッティング法の何れであっても、S H P 1 抗体およびその検出試薬が少なくとも用いられる。また、m R N A 定量法の場合、R T - P C R 法や r e a l t i m e R T - P C R 法を用いる場合、S H P 1 c D N A 検出用プライマーおよび T a q D N A ポリメラーゼ反応試薬が少なくとも用いられる。

【 0 0 9 5 】

次に、本実施の形態における S H P 1 遺伝子メチル化確認工程では、メチル化感受性制限酵素によりメチル化を確認するため、まず、遺伝子切断試行段階にて、メチル化感受性制限酵素、メチル化非感受性制限酵素、およびこれらの反応試薬が少なくとも用いられる。次に、遺伝子増幅試行段階では、プライマー、T a q D N A ポリメラーゼ反応試薬、システム検討用 S H P 1 遺伝子メチル化陽性 D N A が少なくとも用いられる。次に、遺伝子増幅量確認段階では、S H P 1 遺伝子メチル化陽性およびメチル化陰性対照 D N A を用いた反応産物を電気泳動のコントロールとして少なくとも使用することができる。

【 0 0 9 6 】

このように、本発明にかかる検出キットでは、前述した造血器腫瘍細胞検出方法を実施するために好ましい薬剤や標本等が含まれている。そのため、上記検出キットを用いることで、本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法を容易かつ簡素に実施することができ、本発明を臨床検査産業や医薬品産業等の産業レベルで利用することが可能となる。

【 0 0 9 7 】

〔実施の形態 2〕

本発明における実施の他の形態について図 2 5 ないし図 4 7 に基づいて説明すれば以下の通りである。なお、本発明はこれに限定されるものではない。また、説明の便宜上、実施の形態 1 と重複する説明は適宜省略する。

【 0 0 9 8 】

前記実施の形態 1 では、S H P 1 遺伝子メチル化確認工程に、メチル化感受性制限酵素を用いる制限酵素確認法を用いたが、本発明は、これに限定されるものではなく、本実施の形態では、例えば、遺伝子修飾段階とメチル化シトシン含有判定段階とを含む、重亜硫酸塩を用いて D N A を修飾する方法（以下、説明の便宜上、D N A 修飾法と称する）を好適に用いることができる。

【 0 0 9 9 】

D N A を重亜硫酸塩 (B i s u l f i t e) で処理すると、シトシンはウラシルに変換される。具体的には、図 2 5 に示すように、シトシンが重亜硫酸塩によりスルホン化 (S u l p h o n a t i o n) され、さらに加水分解により脱アミノ化 (H y d r o l y t i c d e a m i n a t i o n) され、さらに、アルカリ存在下での脱スルホン化 (A l k a l i d e s u l p h o n a t i o n) により、ウラシルに変換される。このウラシルは P C R 後、チミンに置き変わる。これに対して、メチル化されたシトシン (5 ' - メチルシトシン) は重亜硫酸塩によって変換されない。そこで、本実施の形態では、この重亜硫酸塩処理後の塩基配列の違いを利用して、後述するように、S H P 1 遺伝子のメチル化の有無を検出する。

【 0 1 0 0 】

次に、本実施の形態における S H P 1 遺伝子メチル化確認工程、すなわち D N A 修飾法による S H P 1 遺伝子のメチル化の確認について具体的に説明する。

【 0 1 0 1 】

まず、遺伝子修飾段階として、造血器細胞を含む前記検体試料から得られた遺伝子試料を重亜硫酸塩で処理する。この段階では、上述したように、メチル化されていないシトシンのみがウラシルに変換されるので、例えば、それゆえ、D N A を重亜硫酸塩処理すると、図 2 6 に示すように、メチル化された（図中円で囲んだ M で示す）シトシンはシトシンのままで残存するが、メチル化されていないシトシンはウラシル（U）に変換される。

【 0 1 0 2 】

上記遺伝子修飾段階で用いられる重亜硫酸塩としては、特に限定されるものではないが、例えば、重亜硫酸ナトリウム（ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 、メタ重亜硫酸ナトリウム、二亜硫酸ナトリウムまたはピロ亜硫酸ナトリウムともいう）を好適に用いることができる。さらに、重亜硫酸化合物とともに尿素が併用されてもよい。

【 0 1 0 3 】

次に、メチル化シトシン含有判定段階として、重亜硫酸塩で処理された遺伝子試料に含まれる、S H P 1 遺伝子の塩基配列中のシトシンの有無を判定する。重亜硫酸塩処理物中の S H P 1 遺伝子にシトシンが含まれているということは、処理前の S H P 1 遺伝子には、メチル化されたシトシンが含まれていることになる。それゆえ、シトシンが存在すれば、元の検体試料中に造血器腫瘍細胞が含まれていることになる。

【 0 1 0 4 】

上記メチル化シトシン含有判定段階で実施される、S H P 1 遺伝子の塩基配列中のシトシンの有無を判定する方法としては特に限定されるものではないが、具体的には、1）メチル化シトシンを P C R により検出する方法、2）メチル化シトシンを遺伝子の塩基配列の決定により検出する方法、または、3）メチル化シトシンを含む塩基配列を識別する方法のうち、少なくとも何れかの手法を好ましく用いることができる。

【 0 1 0 5 】

より具体的には、まず、1）メチル化シトシンを P C R により検出する方法としては、メチル化特異的 P C R（M e t h y l a t i o n S p e c i f i c P C R）を挙げることができる。

【 0 1 0 6 】

上記メチル化特異的 P C R 法は、メチル化された D N A に特異的かつ C G 配列を含む塩基配列をプライマーとして設定する。メチル化されたシトシンが存在していれば P C R により増幅が可能となり、それゆえメチル化された S H P 1 遺伝子を検出することができる。

【 0 1 0 7 】

上記メチル化特異的 P C R 法は、従来公知の方法（例えば、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 93, 9821-9826, (1996) 等の文献に開示されている方法）を好適に用いることができ、その具体的な工程や試薬類、条件等は特に限定されるものではない。なお、D N A の精製過程ではエタノール沈澱法や G l a s s b e a d s 法を用いた方法等を用いることができ、また、蛍光ラベルしたプライマーを用いれば、P C R の検出を容易にすることができる。

【 0 1 0 8 】

次に、2）遺伝子の塩基配列の決定によりメチル化シトシンを検出する方法、すなわち S H P 1 遺伝子のシーケンシングでは、C G 配列を含まない領域にプライマーを設定し P C R を実施する。得られる P C R 産物の中には、メチル化をされているもの（C G 配列のままで存在）とメチル化されていないもの（T G 配列に変換されている）が含まれている可能性がある。これをシーケンシングすることにより、C G 配列すなわちメチル化の存在を検討する。

【 0 1 0 9 】

10

20

30

40

50

上記 S H P 1 遺伝子のシークエンシングも、従来公知の方法（例えば、P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 89, 1827-1831 (1992) 等の文献に開示されている方法）を好適に用いることができ、その具体的な工程や試薬類、条件等は特に限定されるものではない。なお、上記プライマーとしては、メチル化された D N A に特異的な配列（C G 配列を含む）を有するプライマーを用いることも可能である。

【 0 1 1 0 】

この方法も P C R を用いているので、検体試料から微量の S H P 1 遺伝子さえ得られれば、S H P 1 遺伝子のメチル化を検出することが可能である。そのため、検体試料中に造血器腫瘍細胞がごく微量しか存在していなくても高い検出感度で高特異的に造血器腫瘍細胞を検出することが可能となる。また、シークエンシングを利用することにより具体的な配列を決定するので、メチル化の程度をより明確化することも可能となる。

【 0 1 1 1 】

次に、3) シトシンを含む塩基配列を識別する方法としては、M s - S n u P E 法、重亜硫酸塩 S S C P 法、メチルライト法、蛍光溶解曲線分析法、C O B R A 法等を挙げることができる。

【 0 1 1 2 】

上記 M s - S n u P E (M e t h y l a t i o n - s e n s i t i v e S i n g l e N u c l e o t i d e P r i m e r E x t e n s i o n) 法は、メチル化された D N A に特異的なプライマーを用いて P C R を実施する方法である。ただし、プライマーに挟まれた領域でのメチル化の有無が判らないので、検出したい C G 配列に隣接するポリヌクレオチドを作成し P C R 産物とアニールさせる。放射性同位元素の存在下で D N A を合成した時に、 ^{32}P -d C T P を取り込めば、そこは C G 配列であるためメチル化されているシトシンが存在することになる。一方、D N A を合成した時に、 ^{32}P -d T T P を取り込めば、そこは T G 配列であるためメチル化はされていなかったことになる。

【 0 1 1 3 】

上記 M s - S n u P E 法は、従来公知の方法（例えば、N u c l e i c A c i d s R e s e a r c h 25, 2529-2531, (1997) 等の文献に開示されている方法）を好適に用いることができ、その具体的な工程や試薬類、条件等は特に限定されるものではない。

【 0 1 1 4 】

上記重亜硫酸塩 S S C P (B i s u l f i t e - S S C P) 法も、メチル化された D N A に特異的なプライマーを用いて P C R を実施する方法であるが、プライマーに挟まれた領域でのメチル化の有無が判らない。そこで、P C R 産物を 1 本鎖 D N A に変性後、S S C P (S i n g l e S t r a n d C o n f o r m a t i o n a l P o l y m o r p h i s m) 法を用いて電気泳動し、1 本鎖 D N A の移動度の違いから、S H P 1 遺伝子のメチル化の程度を判定する。

【 0 1 1 5 】

上記重亜硫酸塩 S S C P 法も、従来公知の方法（例えば、E l e c t r o p h o r e s i s 21, 904-908, (2000) 等の文献に開示されている方法）を好適に用いることができ、その具体的な工程や試薬類、条件等は特に限定されるものではない。

【 0 1 1 6 】

他に、メチルライト (M e t h y l - l i g h t) 法や、蛍光溶解曲線分析 (F l u o r e s c e n c e M e l t i n g C u r v e A n a l y s i s) 法等も挙げられる。これら方法も、何れもメチル化された D N A に特異的なプライマーを用いて P C R を実施する方法であるが、プライマーに挟まれた領域でのメチル化の有無が判らない。そこで、内側の調べたい領域について、メチル化特異的なポリヌクレオチドを作成し、このメチル化特異的ポリヌクレオチドが 1 本鎖にした P C R 産物とどの程度アニール (2 本鎖重合) 反応するかを検討することにより、上記 P C R 産物中のメチル化の量を判定する。

【 0 1 1 7 】

上記メチルライト法は、具体的には、例えば、N u c l e i c A c i d s R e s e a r c h 2 8 (8) , E 3 2 , (2 0 0 0) 等の文献に開示されている方法を、上記蛍光溶解曲線分析は、具体的には、例えば、C l i n i c a l C h e m i s t r y 4 7 , 1 1 8 3 - 1 1 8 9 , (2 0 0 1) 等の文献に開示されている方法を好適に用いることができる。

【 0 1 1 8 】

上述した各方法は、P C Rを用いているので、検体試料から微量のS H P 1遺伝子さえ得られれば、S H P 1遺伝子のメチル化を検出することが可能である。そのため、検体試料中に造血器腫瘍細胞がごく微量しか存在していなくても高い検出感度で高特異的に造血器腫瘍細胞を検出することが可能となる。

【 0 1 1 9 】

上記C O B R A法 (C o m b i n e d B i s u l f i t e R e s t r i c t i o n A n a l y s i s、あるいは、B i s u l f i t e P C R f o l l o w e d b y r e s t r i c t i o n a n a l y s i s等とも称される) では、例えば、C G C G配列がメチル化を受けていると、重亜硫酸処理後もC G C G配列のままに残存するが、メチル化されていないとT G T G配列に変換される。そこで、上記C G C G配列のみを切断する制限酵素等を利用することで、電気泳動ゲル上のバンドパターンを解析して、S H P 1遺伝子のメチル化の有無を判定および定量化することができる。

【 0 1 2 0 】

上記C O B R A法も、従来公知の方法 (例えば、N u c l e i c A c i d s R e s e a r c h 2 5 , 2 5 3 2 - 2 5 3 4 , (1 9 9 7) 等の文献に開示されている方法) を好適に用いることができ、その具体的な工程や試薬類、条件等は特に限定されるものではない。勿論、この方法でもP C Rが用いられるので、上述したP C Rによる利点を得られるだけでなく、制限酵素処理と電気泳動とを用いるので、バンドパターンの解析さえ明確化しておれば、容易にS H P 1遺伝子のメチル化を確認することができるという利点もある。

【 0 1 2 1 】

このように、本実施の形態におけるD N A修飾法では、メチル化シトシン含有判定段階でP C Rを用いているが、このP C Rで用いるプライマーの設計方法について以下に説明する。

【 0 1 2 2 】

上述したように、D N Aを重亜硫酸塩処理するとシトシンはウラシルに変換されるが、メチル化されたシトシンは変換されずに保存される。ここで、細胞内でメチル化を受ける可能性のあるシトシンは、5'配列側からC Gと並ぶC G配列 (5' - C G - 3') のシトシン (C) のみである。そのため、重亜硫酸塩処理により、上記C G配列以外のシトシンは全てチミン (T) に変換されてしまう。そこで、全てのC G配列がメチル化を受けたものとしてS H P 1遺伝子の塩基配列を変換し、プライマーを設定する。なお、D N A中のウラシルはチミンとして認識され、P C Rによりチミンに置換されることになる。

【 0 1 2 3 】

まず、プライマーを計画するD N A鎖に関する条件を設定する。S H P 1遺伝子の塩基配列において、センス鎖またはアンチセンス鎖の何れも、上記C G配列のみがメチル化を受けたとして、その他の塩基配列におけるシトシンが全てチミンに変換された配列を想定する。

【 0 1 2 4 】

具体的には、図27～図36および配列番号5に示す塩基配列が、図1～図10および配列番号1に示すS H P 1遺伝子のゲノムD N A (ワイルドタイプ) のセンス鎖に対応する、重亜硫酸塩処理後の塩基配列 (以下、説明の便宜上、センス鎖変換配列とする) であり、図37～図46および配列番号6に示す塩基配列が、図11～図20および配列番号2に示すS H P 1遺伝子のゲノムD N A (ワイルドタイプ) のアンチセンス鎖と対応

20

30

40

50

する、重亜硫酸塩処理後の塩基配列（以下、説明の便宜上、アンチセンス鎖変換配列とする）である。これらセンス鎖変換配列とアンチセンス鎖変換配列とは、重亜硫酸塩処理により相補的ではなくなる。

【 0 1 2 5 】

なお、図 2 7 ～ 図 3 6 および配列番号 5、並びに、図 3 7 ～ 図 4 6 および配列番号 6 の塩基配列は、C G 配列が 1 0 0 % メチル化されていると想定した場合に、重亜硫酸塩処理を受けたものとしての塩基配列であり、実際には細胞中で 1 0 0 % のメチル化が生じるとは考えられないため、本発明において検出し得る可能性としての塩基配列として例示する。

【 0 1 2 6 】

そして、(I) 上記センス鎖変換配列に対して、フォワードプライマー (F W プライマー) およびリバースプライマー (R V プライマー) を作成するか、あるいは、(I I) 上記アンチセンス鎖変換配列に対して、F W プライマーおよび R V プライマーを作成する。この場合、同じ場所でもプライマー配列はそれぞれ異なる。 10

【 0 1 2 7 】

次に、プライマーを計画する領域に関する条件を設定する。(i) メチル化された D N A のみを直接 P C R で増幅するために、C G 配列を含む塩基配列に対してプライマーを作成するか、(i i) メチル化されたもの、されていないものを区別なく P C R で増幅するために、C G 領域を含まない配列に対してプライマーを作成する。なお、(i i) の場合は、後でシーケンシングかその他の方法を実施し、メチル化を判定する。

【 0 1 2 8 】

したがって、D N A 修飾法で用いられるプライマーの設計には、上記 D N A 鎖に関する条件 (I) および条件 (I I) と、領域に関する条件 (i) および条件 (i i) とを掛け合わせた 4 通りの設計方法がある。 20

【 0 1 2 9 】

ここで、(i) の場合、プライマーの場所が都合良くメチル化を受けていれば検出されるが、その場所ではなく近隣領域のみメチル化を受けているような場合には、メチル化が存在するのにも関わらず検出不可能となる。そこで、(i i) のように、メチル化の有無に関わらず P C R で増幅後、各プライマーに囲まれた領域内のメチル化、すなわち C G 配列の有無を検定することで、確実に S H P 1 遺伝子のメチル化を検出することができる。そのため、本実施の形態における S H P 1 遺伝子のメチル化の判定には、検出用のプライマーの場所のみならず、遺伝子配列の情報そのものが重要となる。 30

【 0 1 3 0 】

また、C G 配列がメチル化されていないと、重亜硫酸塩処理により T G 配列に変換されるが、この T G 配列を含む塩基配列に対して作成されるプライマー (U n m e t h y l a t e d p r i m e r) は、メチル化を受けていない D N A の存在を証明するコントロールとして用いることができる。また、重亜硫酸塩処理が不十分な場合には、シトシンがウラシルに変換されていないワイルドタイプの S H P 1 遺伝子が混入することになる。そこで、重亜硫酸塩処理が十分完全になされたか否かのコントロールとして、ワイルドタイプの塩基配列を有するプライマー (W i l d t y p e p r i m e r) を用いることができる。 40

【 0 1 3 1 】

なお、上述したメチル化シトシン含有判定段階では、P C R により増幅された遺伝子の確認に、前記実施の形態 1 における遺伝子増幅量確認段階と同様の方法、例えば、電気泳動法を用いてマーカと比較することにより遺伝子の増幅量を確認したり、さらに電気泳動後に得られた D N A バンドをメンブレンにブロッティングしたりする手法が挙げられる。勿論、これら手法に限定されるものではなく、また、上記電気泳動法やブロッティングの方法についても従来公知の手法を好適に用いることができ、特に限定されるものではない。

【 0 1 3 2 】

換言すれば、本実施の形態における D N A 修飾法による S H P 1 遺伝子メチル化確認工程 50

でも、前記実施の形態 1 における制限酵素確認法による場合と同様、遺伝子増幅量確認段階が含まれていても良い。

【 0 1 3 3 】

次に、本実施の形態にかかる検出方法の好ましい一例について、より具体的に説明する。

【 0 1 3 4 】

まず、SHP1 遺伝子産物定量工程により、前述した手法を用いて検体試料中に含まれる SHP1 蛋白質および SHP1 mRNA の少なくとも一方を定量する。このプロセスで定量された SHP1 蛋白質が、標準よりも大幅に減少していたり、ほとんど SHP1 遺伝子産物が発現していなかったりした場合には、検体試料中に造血器腫瘍細胞が含まれている可能性が高くなる。

10

【 0 1 3 5 】

次に、SHP1 遺伝子メチル化確認工程で、前記 DNA 修飾法により、検体試料から調製した遺伝子試料中の SHP1 遺伝子の塩基配列中に含まれる CpG 島のメチル化を確認する。具体的には、遺伝子修飾段階にて、例えば重亜硫酸ナトリウムを用いて、上記検体試料から得られた遺伝子試料をで処理する。

【 0 1 3 6 】

次に、遺伝子増幅試行段階に移行するが、このステップでは、前述したプライマーの設計方法に基づいて、PCR 用のプライマーを設定する。

【 0 1 3 7 】

具体的には、メチル化特異的 PCR では、図 4 7 (a) に示すように、例えば、2 3 塩基対のワイルドタイプ DNA (図中上がセンス鎖で下がアンチセンス鎖) を想定し、ワイルドタイプ DNA の CG 配列に 1 0 0 % メチル化があるとする。この場合、重亜硫酸塩処理すると、図 4 7 (b) に示すように、センス鎖とアンチセンス鎖は相補的ではなくなる。そこで、図 4 7 (c) または (d) に示すように、センス鎖またはアンチセンス鎖に対して FW プライマーおよび RV プライマーを作成する。

20

【 0 1 3 8 】

なお、上記メチル化特定 PCR においては、PCR 用プライマーとして、具体的には、例えば、後述する実施例 4 や実施例 5 に示すプライマーペアを用いる。上記のようなプライマーを用いて、重亜硫酸ナトリウムで処理された遺伝子試料に対してメチル化特異的 PCR を実施し、例えば電気泳動により PCR 産物の増幅量を確認する。

30

【 0 1 3 9 】

このように、上記 DNA 修飾法を用いれば、重亜硫酸塩を用いて検体試料から得られた遺伝子試料を処理すると、塩基配列中のシトシンはウラシルに変換されるが、メチル化されたシトシンは変換されない。そのため、遺伝子修飾段階後の SHP1 遺伝子の塩基配列中にシトシンが含まれるか否かを判定するのみで、SHP1 遺伝子のメチル化を検出することができる。そのため、単純なメカニズムで迅速かつ高特異的に造血器腫瘍細胞を検出することが可能となる。

【 0 1 4 0 】

次に、SHP1 遺伝子産物定量工程により、前述した手法を用いて検体試料中に含まれる SHP1 蛋白質および SHP1 mRNA の少なくとも一方を定量する。このプロセスで定量された SHP1 遺伝子産物が、標準よりも大幅に減少していたり、ほとんど発現していなかったりした場合には、検体試料中に造血器腫瘍細胞が含まれている可能性が高くなる。

40

【 0 1 4 1 】

なお、本実施の形態で説明した上記検出方法には、前記実施の形態 1 の検出方法と同様に、他の工程 (プロセス) や他の段階 (ステップ) が含まれていてもよいことは言うまでも無い。

【 0 1 4 2 】

本発明には、上述した造血器腫瘍細胞検出方法だけでなく、該検出方法を実施するための検出キットが含まれる。具体的には、遺伝子処理レベルまで精製された重亜硫酸塩と前記

50

プライマー、および前記 S H P 1 抗体を含む構成を挙げることができる。つまり、本発明にかかる検出キットでは、上記重亜硫酸塩、プライマー、および S H P 1 抗体を、(1) 上記 S H P 1 抗体、(2) 重亜硫酸塩と、該重亜硫酸塩で処理された遺伝子試料に含まれる S H P 1 遺伝子の塩基配列中のシトシンの有無の判定用プライマー、および(3) 配列番号 3 に示す S H P 1 遺伝子 c D N A の塩基配列の全長またはその一部を検出する P C R 用のプライマーに分けた場合、(1)、(2) および(3)のうち、少なくとも何れか一つを含むことが好ましい。

【 0 1 4 3 】

さらに、上記検出キットには、配列番号 3 に示す S H P 1 遺伝子 c D N A の塩基配列の全長またはその一部と相同性を持つノーザンブロッティング用プローブ、または、シトシンを含む塩基配列を認識する制限酵素および S H P 1 遺伝子のメチル化陽性及びメチル化陰性対照 D N A を用いた電気泳動用マーカーが含まれていてもよく、さらには、ヌクレオチドモノマー、ポリメラーゼ、バッファー等の P C R 反応用試薬、および、バッファー等の制限酵素反応用試薬の少なくとも一方が含まれていてもよい。

【 0 1 4 4 】

より具体的に、各工程または段階ごとに用いられる試薬等について説明する。まず、遺伝子産物定量工程では、前記実施の形態 1 で例に挙げたものと同様であるのでその説明は省略する。

【 0 1 4 5 】

次に、本実施の形態における S H P 1 遺伝子メチル化確認工程では、重亜硫酸塩処理によりメチル化を確認するため、まず、遺伝子修飾段階にて、各種重亜硫酸塩等の試薬が少なくとも用いられる。次に、メチル化シトシン含有判定段階では、メチル化シトシンを P C R により検出する方法を用いる場合には、メチル化配列特異的プライマー、および T a q D N A ポリメラーゼ反応試薬が少なくとも用いられる。また、遺伝子の塩基配列の決定によりメチル化シトシンを検出する方法、あるいはシトシンを含む塩基配列を認識する方法では、各具体的な方法に応じて公知の試薬類を用いる。

【 0 1 4 6 】

このように、本実施の形態にかかる検出キットでも、前記実施の形態 1 の検出キットと同様、前述した造血器腫瘍細胞検出方法を実施するために好ましい薬剤や標本等が含まれている。そのため、上記検出キットを用いることで、本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法を容易かつ簡素に実施することができ、本発明を臨床検査産業や医薬品産業等の産業レベルで利用することが可能となる。

【 0 1 4 7 】

なお、本発明は、上述した各実施の形態に限定されるものではなく、請求項に示した範囲で種々の変更が可能であり、異なる実施の形態にそれぞれ開示された技術的手段を適宜組み合わせて得られる実施の形態についても、本発明の技術的範囲に含まれることはいうまでもない。

【 0 1 4 8 】

【実施例】

以下、図 4 8 ないし図 5 2 に基づいて、本発明の具体的な実施例について説明する。なお、本発明はこれに限定されるものではない。

【 0 1 4 9 】

【実施例 1】

ナチュラルキラー細胞リンパ腫を含む検体試料を用い、T o w b i n H. e t a l : P r o c. N a t l. A c a d. S c i. U S A 7 6, 4 3 5 0, (1 9 7 9) に開示されている方法にしたがってウエスタンブロッティングを実施した。なお、S H P 1 抗体として # S H - P T P 1 (D - 1 1) : s c 7 2 8 9 (S a n t a C r u z B i o t e c h n o l o g y I n c. 製) を用いた (S H P 1 遺伝子産物定量工程・蛋白質定量法) 。

【 0 1 5 0 】

その後、SHP1 遺伝子メチル化確認工程に移行した。まず、メチル化感受性制限酵素としてHpaIIを用いて、上記検体試料から調製した遺伝子試料を37℃4時間で処理した（遺伝子切断試行段階）。

【0151】

次に、HpaIIで処理した遺伝子試料をPCRで増幅した（遺伝子増幅試行段階）。このとき用いたプライマーペアは、配列番号7および図48（a）に示す19塩基のプライマーREP-S1と、配列番号8および図48（b）に示す20塩基のプライマーREP-AS1との組み合わせとした。このプライマーペアを用いた場合、配列番号9および図48（c）に示すように、SHP1 遺伝子のセンス鎖の配列（配列番号1および図1～図10参照）における、7441塩基から7566塩基までの126塩基の塩基配列が検出される。

【0152】

なお、図48（c）におけるカッコ内の「#（番号）」は、上記SHP1 遺伝子のセンス鎖における塩基の位置を示しており、下線部はプライマーREP-S1およびREP-AS1の対応位置、並びにHpaIIの認識切断部位の位置を示している。また、プライマーREP-AS1は、上記REP-AS1の下線部の領域におけるアンチセンス鎖の配列に対してデザインされたものである。

【0153】

その後、アガロースゲルで電気泳動してから、得られたDNAバンドをナイロンメンブレンにブロッティングしてSHP1 遺伝子の増幅を確認した（遺伝子増幅量確認工程）。

【0154】

次に、Towbin H. et al: Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 76, 4350, (1979)に開示されている方法にしたがってウエスタンブロッティングを実施した。なお、SHP1 抗体として#SH-PTP1 (D-11): sc 7289 (Santa Cruz Biotechnology Inc. 製)を用いた（SHP1 遺伝子産物定量工程・蛋白質定量法）。

【0155】

上記SHP1 遺伝子メチル化確認工程とSHP1 遺伝子産物定量工程との結果から検体試料中の造血器腫瘍細胞を検出した。

【0156】

〔実施例2〕

遺伝子増幅試行段階で、プライマーペアとして、配列番号10および図49（a）に示す21塩基のプライマーREP-S2と、配列番号11および図49（b）に示す21塩基のプライマーREP-AS2との組み合わせを用いた以外は、前記実施例1と同様にして検体試料中の造血器腫瘍細胞の有無を検出した。

【0157】

上記プライマーペアを用いた場合、配列番号12および図49（c）に示すように、SHP1 遺伝子のセンス鎖の配列（配列番号1および図1～図10参照）における、6858塩基から7084塩基までの227塩基の塩基配列を検出することができる。

【0158】

なお、図49（c）におけるカッコ内の「#（番号）」も、上記SHP1 遺伝子のセンス鎖における塩基の位置を示しており、下線部はプライマーREP-S2およびREP-AS2の対応位置、並びにHpaIIの認識切断部位の位置を示している。また、プライマーREP-AS2は、上記REP-AS2の下線部の領域におけるアンチセンス鎖の配列に対してデザインされたものである。

【0159】

〔実施例3〕

RT-PCRによるmRNA定量法を用いてSHP1 遺伝子産物定量工程を実施した以外は、前記実施例1と同様にして検体試料中の造血器腫瘍細胞の有無を検討した。

【0160】

10

20

30

40

50

すなわち、前記検体試料から全細胞内のRNAを調製してから逆転写酵素により逆転写した。その後、SHP1特異的プライマーペアを用いてPCRにより増幅した。上記SHP1特異的プライマーペアとしては、配列番号13および図50(a)に示す23塩基のプライマーSHP-PF1と、配列番号14および図50(b)に示す25塩基のプライマーSHP-PR1との組み合わせを用いた。

【0161】

〔実施例4〕

real time RT-PCRによるmRNA定量法を用いてSHP1遺伝子産物定量工程を実施した以外は、前記実施例3（すなわち前記実施例1）と同様にして検体試料中の造血器腫瘍細胞の有無を検討した。上記SHP1特異的プライマーペアとしては、配列番号15および図51(a)に示す20塩基のプライマーSHP-LF1と、配列番号16および図51(b)に示す20塩基のプライマーSHP-LR1を用いた。

【0162】

〔実施例5〕

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93, 9821-9826, (1996) に開示されている方法にしたがってメチル化特異的PCRを用いてSHP1遺伝子メチル化確認工程を実施した以外は、前記実施例1と同様にして検体試料中の造血器腫瘍細胞の有無を検討した。なお、重亜硫酸塩としては、重亜硫酸ナトリウムを用いた。

【0163】

また、上記メチル化特異的PCRにおけるプライマーペアとしては、配列番号17および図52(a)に示す24塩基のプライマーMF2と、配列番号18および図52(b)に示す21塩基のプライマーMR2との組み合わせを用いることができる。このプライマーペアを用いた場合、配列番号19および図52(c)に示すように、SHP1遺伝子のセンス鎖の配列（配列番号1および図1～図10参照）における、7037塩基から7195塩基までの159塩基の塩基配列を検出することができる。

【0164】

なお、図52(c)におけるカッコ内の「#（番号）」は、上記SHP1遺伝子のセンス鎖における塩基の位置を示しており、下線部はプライマーMF2およびMR2の対応位置を示している。ただし、上記各プライマーはメチル化されているDNAのみを検出できるように設計されているので、その塩基配列は、上記下線部の塩基配列とは少し異なっている。また、プライマーMR2は、上記MR2の下線部の領域におけるアンチセンス鎖の配列に対してデザインされたものである。

【0165】

〔実施例6〕

検体試料として、診断用の骨髄(BM)検体と、ALL（急性リンパ芽球性白血病）患者の末梢血(PB)検体とを用いた。ALL患者から得られたBM検体は少なくとも70%の比で芽細胞を含んでいた。また、これら検体試料に対する対照試料は、化学療法によって達成された血液学的完全寛解の後に得られた。

【0166】

上記検体試料を用いてマイクロサテライト解析を行った。このときのPCR反応では、5'側のプライマーを、5'-iodoacatamide fluoresceinでラベルし、反応系は、10 pmolのそれぞれのプライマー、40 ngのゲノムDNA、1×PCRバッファー、200 μMのそれぞれのdNTPと、0.5 unitのTaq DNA polymeraseを含む20 μlの系とした。得られたPCR産物は、ABI Prism 3100 DNA sequencer (Applied Biosystems, Foster City, CA) にかき、Genescan Analysis software ver 3.7 (Applied Biosystems) で解析を行った。

【0167】

10

20

30

40

50

その結果、図 5 3 (a) ・ (b) に示すように、D 1 2 S 3 3 6 マーカーおよび D 1 2 S 3 5 6 マーカーによって S H P 1 遺伝子の L O H の有無を確認できることがわかった。本実施例の結果では、これらマーカーのうちテロメア側の D 1 2 S 3 5 6 マーカーでは、有意な結果が得られた 1 9 症例中 1 5 例 (7 9 %) に L O H が認められた。また、セントロメア側の D 1 2 S 3 3 6 マーカーでは、1 6 症例中 6 例 (3 8 %) に L O H が認められた。

【 0 1 6 8 】

上記何れの実施例の結果も、検体試料から十分に造血器腫瘍細胞を検出することができた。それゆえ、本発明は、複数の診断手法を併用しなくても造血器腫瘍細胞を容易かつ迅速に検出することができることがわかった。

10

【 0 1 6 9 】

【発明の効果】

以上のように、本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法は、造血器細胞を含む検体試料に含まれる、造血器細胞に特異的な S H P 1 蛋白質およびその m R N A の少なくとも一方を定量する S H P 1 遺伝子産物定量工程と、上記検体試料から得られる、上記 S H P 1 蛋白質をコードする S H P 1 遺伝子の塩基配列中に含まれる C p G 島のメチル化を確認する S H P 1 遺伝子メチル化確認工程と、上記検体試料に含まれる S H P 1 遺伝子の異型接合性喪失 (L O H) の有無を確認する S H P 1 遺伝子 L O H 確認工程とを含む方法である。

【 0 1 7 0 】

また、本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出キットの好ましい一例としては、(1) 造血器細胞に特異的なプロテインチロシンホスファターゼ S H P 1 蛋白質を抗原とする S H P 1 抗体、および (2) シトシンを含む塩基配列を認識するメチル化感受性制限酵素と、S H P 1 遺伝子の塩基配列中に含まれ、上記メチル化感受性制限酵素に認識される塩基配列を含む領域を増幅する P C R 用のプライマーと、上記 S H P 1 遺伝子のメチル化陽性及びメチル化陰性対照 D N A とのうち、少なくとも一方を含む構成か、あるいは、(1) 造血器細胞に特異的なプロテインチロシンホスファターゼ S H P 1 蛋白質を抗原とする S H P 1 抗体、(2) 遺伝子処理レベルまで精製された重亜硫酸塩と、該重亜硫酸塩で処理された遺伝子試料に含まれる S H P 1 遺伝子の塩基配列中のシトシンの有無の判定用プライマー、および (3) 配列番号 3 に示す S H P 1 遺伝子 c D N A の塩基配列の全長またはその一部を検出する P C R 用のプライマーのうち、少なくとも何れか一つを含む構成か、または、造血器細胞を含む検体試料から造血器腫瘍細胞を検出するために用いられ、造血器細胞に特異的なプロテインチロシンホスファターゼ S H P 1 遺伝子を挟み込む 2 つのマイクロサテライト・マーカーの少なくとも一方の全長またはその一部を検出する P C R 用のプライマーを含む構成を挙げることができる。

20

30

【 0 1 7 1 】

本発明の方法または構成によれば、S H P 1 遺伝子の発現を、遺伝子 D N A の修飾と m R N A と蛋白質と対立遺伝子の喪失という最大で四重のマーカーを用いて判定できることになる。すなわち、S H P 1 遺伝子の発現低下という一つの造血器腫瘍細胞特異的な現象を 4 段階で確認することができるため、非常に高い特異性で造血器腫瘍細胞を検出することができる。よって、本発明を用いることで、造血器細胞を含む微量の検体試料から造血器腫瘍細胞を容易かつ迅速に検出することができる。

40

【 0 1 7 2 】

それゆえ、本発明における悪性リンパ腫・白血病の高感度検出法を用いると、一般集団検診による造血器腫瘍の早期発見、診断および治療後のモニタリングや再発の早期発見が可能になり、これら疾患を発症した家族等血縁者における発症危険度の予測等に本発明を利用することも可能となる。その結果、本発明を臨床検査産業や医薬品産業等の産業レベルで利用することが可能となるという効果を奏する。

【 0 1 7 3 】

【配列表】

<110> Japan Science and Technology Corporation

<120> Hematopoietic malignant cell-d
lignant cell-detection kit

<130> Y2002-P331

<160> 19

<170> PatentIn Ver. 2. 1

<210> 1

<211> 18404

<212> DNA

<213> Homo sapiens

10

<220>

<223> genomic DNA

<400> 1

ccatctagtt	gtgcccagtg	tagaccaaat	gtc
ctgcatgcgt	cctgttttggc	aaacagctgc	cca
actaccaccc	cctccaggtg	tcttaggcac	gct
actccctctt	gcaggtgtcc	ttaagttttgc	tcg
tcctgagatc	gccagcctgt	caggcaagct	gaa
gccaccccat	gggcctgctg	ctggtggcag	cgt
ttgtgccact	gccagggggag	gaaaggcctt	gat
gacttagcct	tggtgtcagt	ctcttgcgga	cct
tccctctgcc	tttccaggcc	ccatccccct	gaa
cctaaccctg	ccccaggggcc	taaccctacc	tga
tgagaggctg	gagtgggtcc	ctcagcgccc	tgg
ccttctctga	ggaactgggc	tgttagggat	ttt
gagagggtttc	ccccattggt	tgctcttcct	cag
tacccaatac	cccgccgctc	tgtcagcttg	agc
ctctcccggg	ggaaggcggc	cctggaccag	cag
gctgcaggga	agctggccgc	tgtgggcggt	ctc

20

30

40

tcctggagac tattagacca gggttgtgcc ctgcagtgcc attggccctgg caggcaggat 1020

c g a g g a g g a a	g t g g c t g a t t	a c t g a g c g g t	t c t
c a g c t g t g c c	g c t g g c t c a g	c c c c g c c c c c	t g c
t a c a g a g a g a	t g c t g t c c c g	t g g g t a a g t c	c c g
t a g t t t t g g a	g g g a g g g a g g	g c t t t g t t g a	t g c
c g a t c t g c c g	c t g c c c t g c g	c c t g t t t c c g	g t c
g t g a g g a c c c	c c g g c t c a c t	c a t g c t c c t c	t g c
a g t g t g t a t c	t g t t c t c t c c	a t t g c a t t t c	t a c
c t c c t g c t t a	g g a c c t g t c c	c c c t g g g t a g	c t c
g c c a c c c g c g	a a g g c c c t c c	c a c g t c c a g c	c a a
t t g g t c c c a t	c t t c t t t g t t	t c c t t t c a c t	t c c
g t a c g t g t t g	a g c a t c t a t t	a t g c a c c a g g	t g c
g a a c a a g a c a	g a c a t g g t c t	c t g c t c t c a c	g g a
c c g a a c a a a t	a a c c c a a t a a	a t t g g a t c a t	t g c
t a g a c a g c c t	t g g c c g g g t g	t a g t g g t t c a	c a c
a g g c g a g a g g	a t t g c t t g a g	c c c a g g a g t t	t g a
c t g t c t c t a c	a a a a a a t a a g	a a a t t a g c t g	g g t
c t a t g g a g a g	g c t a a g g t g a	g a g g c t t g c t	t g a
g a t g a t t g c a	c c a c t g c a c a	c c a g c c t g g g	c g a
a a a a a a a a a a	g a a a a t g a a c	c a g c t t c a t a	t g c
a t t a c t a g c t	g g a g g g a t c a	g g g a g g c c t t	c c c
g g a t g a g g a g	g a a g a g g a g c	t g g c c a t g t g	a c g
g c a g a g g a g a	t g g t g a g c a c	a a a g c c c t a a	t g t
c c c g t g g c a g	a g g a c c c t a g	t g g a g c g g a g	g c a
a g c t a g g a t g	t t g a a a g t g a	a a a c c t g a c g	a g a
c a c t t t t g g g a	g g c c g a a g g g	g g a a g a t t g c	t t g
c a a c a t a g a g	a g a c c c c a t c	t c t a t t a a a a	a a a
t g g t a g t c c t	a g c a g t t t g g	g a g g c t g a g g	t g g
g a c c a c c c t g	g g c a a c a t a g	g g a g a g a c c t	c a t

10

20

30

40

tactaataaaa tagctggatg tagtggcatg caccigtggt ctcagttact tggaaggctg 2760

aggcaggagg	atcacctgag	ccaaggagggt	cga
gcacttcagc	ctgggtgata	aagcaagatt	ctg
gaaggaaaga	aggaaggga	ggaagaaaga	aaa
cgagaaagaa	gaaagaaaaag	gaagggaagg	aag
aagtgacacc	cagtcgaaag	aagaaaggga	aga
gaaaaaagaa	aaagtgacaa	ccggctgggc	atg
ttgggaggcc	gaggcagggtg	gatacagagg	tca
ggtgaaacc	tgtctcaact	aaagatacaa	aaa
acctgtgagt	cccagctact	agggaggctg	agg
ggaggttgca	gtgagccgag	attgcgtcac	tgc
ctccatctca	aaaaaaaaaa	aaaaagaaaa	gaa
ggcgagtttg	tgggtgggtg	gctccctagc	cct
ctgccccctgc	cccagtgcac	atcttgtcac	tgt
gtcttctggt	ccctgatccc	gtctgtggtc	att
ccccctgggtgc	agattttcatc	cttgggtttct	cag
gggtcccccac	ctctcagaac	aacttttgctc	cag
tgcccatgtg	gactctgtgc	gtgccacctc	ttt
gcacttcttc	ctccaccttc	catcatgggc	tgt
cgctgtctgc	tgcagtatgg	ttgttggggg	aaa
cgtgtttttac	ccaccttcct	actcactagc	ttg
tgagtccttag	tttctgtttc	taaaattggg	tga
gaggattaat	agtataaatgt	aaaagctggc	agc
tcacatcagt	atttgggaaa	tattgttaag	ctc
agagcagttc	cagaactttc	tacagattat	ttt
tcttcttgta	tcaccattga	tcttgatctg	tat
ggagttttcac	tctgtttgcc	aggctggagt	gcg
tccacctcct	gagaagctgg	gattacaggc	tag
agctgggtctc	gaactcctga	cctcaagtga	tcc

10

20

30

40

gattacaggt giaagtcact gcgcccagct giatititiat tttitgagac agggcttcac 4500

t c t g t c a c c c	a g g c c g g a t t	a c a g t g g c a c	a a c
c a g g c t c a a g	c g a t c c t c c c	a t c t c a g t c t	c c c
a c c a c a c c t g	g c t a a a t t t t	g t a t t t t t t g	t a g
c t g c t c t c a a	a c t t g g t g t c	a a g t a a t c c a	c c a
a c a g g c g t g a	g c c a c t g c g c	c t g g c c t t g a	t c t
a a t a t t t t t t	t c t t c t g a a t	t a t c a g g c a t	t t a
t t g t t t c c g c	c c a t a a g a a a	a t g g g g a a a a	t g a
c t a a a t g a g a	t c g t g t a t g t	g a a a g t g a t c	t g c
a g g t a g t t t t	t t a t t t t c c t	g c c a a a g g a t	a g c
g t c t c t t g g c	t t g a c a c c c t	t c a g a g g a a t	t c c
g c c t a g t t a g	t t t c t t c t g g	g t g c c g a g t t	a a t
t g g a a g g a g t	g t c t t g g g g c	c a g g g t g c a g	t g g
a c t t c g t g t g	t g g t c a g a t t	t a t g t t c c a t	g c g
g t g t a g g t g g	a c a t g g a t g a	t g a g g t g t g t	g t g
c g t a t g a c a a	g c a g g c t g t g	t g t g t a g g a c	c a g
g c t a t g g a c t	g a c g a g c t t g	t t t g t t g a a c	a c t
t c t g a a c a c t	c c g a g a t g a g	c g a g a g c g c c	a g c
c a t g t g c t c t	t c t t g c t c c t	t g g c g t t g g g	c g t
g g g g t g g t g t	c c a a g c t g a a	g g g g t a g t c a	a a g
a g a t t c c c c a	g g g c a c c a g t	g a g a g a a g a a	a a c
a a g a a a a g t g	g a a a a g c c t t	t t t t g g g g g a	a a a
a t a a t g t a g t	t a t c a t g g g a	a a a t t a g a c t	t g t
c t g a a g c a g a	a c a t g c a t a a	t g t t c a t a a a	t a t
t t t t t t t t t t	g a a a t a g a g t	c t t a c t g t g t	t g c
g g c t c g c t g c	a a c c t c g g c t	t c c t g g g t t c	a a g
a g c t g g g a t t	a c a g g c g c c c	a c c a c c a t g c	c c a
a g g g g g t t t c	a c c a t g t t g g	c c a g g a t g g t	c t c
c t t g g c c t c c	c a a a g t g c t g	g g a t t a c a g g	c g t

10

20

30

40

tttatacaca cccaigcaaa cagcatccag atagagacaa agagccticc cigtacccta 6240

a a a g t t t c c c	a g a a a t t g t t	c c c a g t t a g c	a t a
c a t c a t a t a a	c a t t c a a a a a	g g t a t g t a g a	g a a
c a g c c a c c c a	g t t t c c c t c c	c t a g g g g a a g	c c a
g t t g a g c t g c	t t t t c c t c g t	t t t g g t t t g g	c g g
g t a g g c a g c a	t c a t a t a c c t	t a g t g t t t a g	g g c
t c a g c c a t g g	t g a g g a c c t t	g t c c c c c a g c	c c c
c t g g g g c a g g	g c a g a g g c c t	a g g g a c a a g a	a t t
t c a g g g t c a t	g t t g t c c a t c	c c t c t g c c a c	a g t
a g a g g a g g g c	a c c c t t c t c t	c t t g c a a g c a	t t g
t c c c a t g g c a	g c c c c t t t g g	a c a a g g a g g c	t c t
g c t g g t g t a t	a g g a g t t c a a	a g c a c t g g c t	t t g
g g c a c t g c a g	c t g a c t c a c t	g a t g g a c t c a	g g c
t t c c t t g t c t	g t a a a a t g a t	a a a g a t a g c c	c c t
a t c a g a c a a g	g c a t g t g a a c	g c c a t t a t a g	c a c
c g a t g a c a g t	t g t c a c c g c c	a t c a t t g t t a	t t a
g c a g c t g g t g	g a g g a g g g a g	a g a t g c c g t g	g g a
t a t c t g g g c c	t g g a g t g t g c	a a g g c a c a c a	t g t
g t g c a a t g c c	a t g c t c c t g a	g c c t t t g a t t	g c a
a c c c c c a g t g	c c a c c c t g c t	c t g c t t c t c t	t c c
a a g t g a g t t c	c c c c a a g g g g	t c g g c c g c g c	c t c
c a g g c c a g t g	g a g t g g c a g c	c c c a g a a c t g	g g a
a c t g g g a g c t	g c a t c t g a g g	c t t a g t c c c t	g a g
c t c c t c a t t c	c c t g c g c c c c	c t t c c t c t c c	g g a
t g c c a c c c a c	g g t a g a c a g g	a g g c a a g g g t	g c c
c c c t g c c t g g	g c c g c c c a g g	t g g t t t c a c c	g a g
t g c t c a a g g g	c c g a g g t g t c	c a c g g t a g c t	t c c
g t g a c t t c t c	g c t c t c c g t c	a g g t a g g t g g	g c c
t c t c t t g t g c	c a t c c a g g c c	c t g a a c c a c t	c a t

10

20

30

40

ccccgicigt tcccttgccc ccaacccccca cactccccat cccigicigt gccacccat 7980

gccccatgtgt	gccccccaccc	aggacctcag	ccg
caccgactgg	cctcacccgcc	tgggtgccctg	cag
gatccagaac	tcagggggatt	tctatgacct	gta
agagctgggtg	gagtactaca	ctcagcagca	ggg
catccacctc	aagtacccgc	tgaactgctc	cga
caccccccgcc	attcccaagc	agggatgagc	cgg
gggagactgg	cagccggcgcc	tgcctacctt	cca
gctctcaatg	tccctcctcc	ctgctgtcct	ggg
accttttcca	cctaaccctcg	aggaagccac	aga
ctggcccgctg	caaccacaggt	cccactggag	aca
tcgtgcaggc	cagctctgtt	gttagaaagc	tct
ctccgtctgc	ccctcaccccc	agcacatgtt	agg
gatgggggatg	aatgcttgcc	aagacacttg	atg
ggctctgtcct	gtgggggtcaa	ataggctctcc	ggc
gtgaagtgtt	cacctgtgtgta	aagtgtctca	cgc
gcatttctctt	cctgttgccct	ccccgactcc	tcc
ggctggggggc	tctgaatgct	cctcatgaca	cca
tgccagatcc	ccttagagta	aaggggcagcg	gaa
cctggggccaa	gccgacttgcc	ccttgcccgctg	gat
atgatcggga	accttgctcc	tgccagcttg	cag
gcatacaatat	tttttggtcaa	ggcactgatt	gaa
agccctgttg	cccacctggg	aggcctcctt	tcc
tctctctgtg	agcctcacat	ggctggctcc	gtg
ccgcaaacact	caggggggctt	ttgggcaccga	gac
ccttgccctcc	agccaggaga	ggaggacggg	ctg
gcaggggcccc	aggaggcccc	tgccagaggag	gct
agagagagaaa	ggaaggaggagg	gcagtgccgg	ggc
tgagaggccct	tttggggtgac	ccgtcccagg	agc

10

20

30

40

gigagaggct ctttctccca ggttcgtcig tgcctcigc cttgtcigig cgcctcctcc 9720

t c t g c g a g a a	t t t g c a t c t g	t c c c t c g g t g	g c t	
t t g c a t g g a g	a c t t c c t c a t	c c t g g g g c c t	g a g	
c c t g g g g t c c	t a g c c t g t c c	c c a g g c g g t g	g g c	
t c t g g g g g t c	t c t c g g c t g g	a g t c a c c t c c	g g g	
g g t c c t c c c c	t c c t t c c c c c	c a t c c c t g c g	g t t	
c c t g g g c t g a	g g a a a c c t c a	c a a c c t c a c t	t c t	10
t t t t t t c c a t	c a c g t g g t t t	c c t g t g g g g c	t g g	
g g a a a g g g g t	g t g c t t c g g g	g a a a g g g c t t	a g t	
a a a t c c g t t t	g a a c c c t g g g	c t c c c c t t c a	g t g	
c t a c a c c a c t	c t t t c c c c a g	t g g g g t t g t c	t t c	
t c c g c c t t c c	t t g t g a c t t g	a g t c t g t g t g	t c c	
c t c g g t c t g c	g t t t c t c t t t	g c c t c t g g t c	t c t	
a g a t t c a t c c	t t a g c t t c t c	t c c t c c a a a t	a t t	20
c a g a g g t g g g	c t c t g g g t t c	g a a g c c c g g t	t a g	
c t g g g a g g t c	g a g g c t g c a g	a g a g c t g t a a	c c g	
g a g c t c t g g a	a g c t t g c c c t	a g a g t c a g t c	a a g	
g c g t c a g t t t	c c t c a t c t a t	a a a a t g g g g g	t a a	
t g a g a g a c c t	a a a t g a g g t g	g t g g a t t t g g	a a g	
a g g t g c t t g a	t t t c c g g c c c	c t c t c t g t g a	a t g	
c t g g g t c t t a	c c t t c c c t g a	c g c t g c c t t c	t c t	30
g g g c a g g c a g	a g a c g c t g c t	g c a g g c c a a g	g g c	
a g c c t c a g c c	a g c c t g g a g a	c t t c g t g c t t	t c t	
c c a g g c t c c c	c g c t c a g g g t	c a c c c a c a t c	a a g	
g g c g g g g g a g	c c t c t g c t g a	g g c t c c t g t c	t g t	
c t g c c t g g g c	t t g a a t t c a a	g g c t g g g g a c	c c a	
g c c t a a t t t g	g c t c c c c c c a	g g g t g g a c g c	t a c	
a g c c t c a c g g	a c c t g g t g g a	g c a t t t c a a g	a a g	40
t t t g t c t a c c	t g c g g c a g g t	c a g g g g t g g g	c c c	

```

tccccagat gigagcttct gggatctctg agttgctgac ttctcgctct tcccccccc 11460
agccgtacta tgccacgagg gtgaatgcgg ctg
acaagaagca ggagtccgag gatacagcca agg
atggtgggga ccgggcagggc tgggggcagct gag
cggacacctt cccctccttg cccacctctg ctc
atggatgccc tcttttgggag ctgatgctca ttt
agcaggagggt gaagaacttg caccagcgtc tgg
agaaccgcta caagaacatt ctccccctgtg agc
accgccccctg ccccagctgc ctccccctcat ctc
ggggccatctc cccacaccccc ccacagagcc tcc
ccagaagtgc ctccccacca ccagcaggca ggt
actccctcac tccctccata cagatgatcc ccc
gcctcatggc ttctgagacc agaattggcct gtt
gtgagtcacct ggctaaccaca gaccatctctg cct
agccgagtgat tcctgcaggg acggggacagt aac
aactacatca aggtcagcag tgtggggccac gtg
cctgtcttgggt gggggggaccc tagatccaga gac
tgcatggggtg aggggtggcag tgggttcagggg cct
gggggtgcgtc tctccacgct tgcgtccaga acc
agacctacat cgccagccag ggttgtcttg agg
cgtggcagga gaacagccgt gtcatcgtca tga
tagggcgccc ccccttcccc gcatccgccc ccg
gagcagtcag atgccaggggc agaaagggat ctc
aaactgagggt ctagtgacaa agtctcgact aca
atccctgggc tcttctgagc tccagaccca ggt
ctgccccacc tgtctgcatc caggccccctc ctg
agtctgcccc ttaccctgca ggctccccctt aca
gatcccatcc gtgacacaaa ctggggtcaag ttc
tcctgggtcac ctttgggata aagtcgcaact cta

```

10

20

30

40

```

tccctctgac ccgcacgctt ctctgaagg ctaccgccc ccagcagccc cagctcttcc 13200
a g g t t c c c a g   c c t t t c t t t g   c a c a a g c t c a   t t t
t a t c t c t g c c   t g g c a g a t g c   c t c g t t t t t g   a a g
g a a t c c a g g t   c t t g t t t c c t   c c a g g a c c t a   g a g
t c c t c a g c g c   g g t g t c t c c c   c c g g t c a c c t   g t c
a c a g a c t g g g   t g t t a t t t g t   g t c t g t g a a g   c t g
g c c t g c c c t g   g c a a c g t t t g   t t g a a t g a c a   a a c
g c c t c a c c a c   c t g t t g g t g g   t t g a t c t g a g   a c g
a g c c c a t c c g   t c c a t c c a a c   a a a t g t t t g g   g c c
g g a c c t g g g a   t g g g c c a c a g   t g c c c t g c t c   t g t
c c a g a a c a a a   t g c g t c c c a t   a c t g g c c c g a   g g t
c t c t g t g a c c   a a c t g c g g g g   a g c a t g a c a c   a a c
c t c c c c g c t g   g a c a a t g t g a   g t g g c c c c c a   c g c
g g a c t t g t t c   t c c t c t c t g g   t c g g g t a g g g   t g a
g g g g c a c t g a   c c c t a t g t c c   t c g g c t t a g g   g a g
a g t a c c t g a g   c t g g c c c g a c   c a t g g g g t c c   c c a
t g g a c c a g a t   c a a c c a g c g g   c a g g a a a g t c   t g c
g c a g g t g a g g   a t g a t a a t c c   t g a t g g t a g t   a g t
t g c c a t g a g c   t g t t a t a a g c   a a t a t a a a c g   t t a
c c c c c g g c t t   c t c c t g g g t c   c c c t c a t g g c   t c c
c c a g c c c c a c   t t t g g c c c t c   t g c c t g t g g g   t a t
c a t c t c g c c c   a a c c c t g c c a   a a t a c a g a g g   a g g
c c a a g c t a g t   c a g g g c a a g g   c c g g g c a g g c   a c c
c g c t t t c t c t   c g a g g t c c c a   t t c t g t t g g t   t t c
t g c t c c c c a t   t c c t c c t c t t   t t t c c a t c g g   t a g
c t g c c c t c t c   t c c c a g c t t c   c c c a g g c a g t   g c c
g a t g g g t g a t   g c t t c t t t g g   g g c t g c a c a t   a a c
t g a t c a g g a g   a c c t c t g g t a   a g g t g c a g a g   g t g
a c a g g t g a g c   c c a c t g a g c t   g g c c t g g c c t   g g g

```

10

20

30

40

ccctcgcctta ccagctgigt ggctctggac aaattactta acttttctaa ccttcagctt 14940

c c t c a t c t g t	a a a a t c a g g a	t c t c a g g g t t	g t c	
g t g g c t g g a a	t t c c g t c a g c	c c t c a a a a a c	t g g	
t c a g g c a g a g	a a t a g g g g a a	t g g g a a c c t g	c c t	
t g g a c c c c a g	g c c t g c g a c g	g c c t c t g g c t	t c c	
t g g g a c a g g g	c a a g t c g g c t	g a a t c t a g a g	g t g	
c t c t g t c c t g	t g c t c t c t c a	g g g a c a g g c c	c a t	10
g c c a c a c a c a	c a t t c a c a c a	c t t c t t g a a a	g c c	
a a g g a a g t g g	g t g t g g g g g g	t t a t t t t t g a	c a a	
t c a g g g c a t c	a g c t t g c t g g	g c t c a g c t g a	g g g	
t t g c c c a g g g	c t g g g a a a g g	a g a g a a a c t t	c c t	
c c c t g t g c c c	c c g c a c c c t g	c t g t c t c a g g	g c t	
g g a a a a g g g a	a g t g a a g c c a	t g c t g a g a g a	c g c	
g a g g g c t c a g	g g t a c c t g g g	a g c c g g c a g g	a c a	20
t c c g g g g t g g	g g g c a g c c a c	t c a c t a g g a g	t g a	
a a g g a t g g t g	g c a g c t g g g g	a g c c a g c g t c	a g c	
c a t g c a g a g c	t g g g c a a a c c	t c c a t c a t c a	c t t	
c c a t c a c t g g	a g g c t c a g g c	t g c t c c t g t g	g t g	
c c c c c c t t c c	c g g g g a g g g c	t t g a c t g g c c	t c t	
c g g c a t c g g c	c g c a c a g g g a	c c a t c a t t g t	c a t	
c a a g g g t g a g	g g g c a c c t g g	g g g t t t g g g g	g t g	30
c t a t g c c t g g	a c c t g a g g t t	t g a c t g c c c c	c c a	
c c a g a a g a c c	a t c c a g a t g g	t g c g g g c g c a	g c g	
g t a c a a g t t c	a t c t a c g t g g	c c a t c g c c c a	g t t	
g g t c c t g c a g	g t g c g t g c a g	a g c a g g g c c t	g g g	
g t g c c a c c t g	g c c c t g c t g g	g a c c a c c a c c	t t c	
a a g g g c c a g g	a g t c g g a g t a	c g g g a a c a t c	a c c	
g c c a a g g c c t	c c c g c a c c t c	g t c c a a g t g a	g t g	40
c c c c t t t g t c	c t g c c c a g c c	c g a t c c t c a c	t t t	


```

gggacctggc ttcaagtica ggcttgggtc tcaccccttc tgttcataag catttctga 16680
gtgcccacac gtgtggggcct ctgctaggta cca
ctctgtcctc taggagcttg gagtctagtg cag
ggggtggcca gagggggactg ccagtgccgg gtc
aactgcctgt acttgcccc cctgcacact agt
cctgcacact aagaacaaga gggaggagaa agt
gaagagcaag ggttccctca agagggaagtg agc
agctctttctg cctggggtgtc ctccctgccc tgc
ctggggtggat ggggtggccg cagcctcatt ctg
gttccacctc caggttccag ctacctctc act
agccctgacc ctgtggaagc atttcgcgat gga
ccccattctt ttgtaattta aatggctgca tcc
agcccagcca ggccccaggc agggccaacc ctt
caactgtgtgt cgccctctgag cccttttgctt gcc
caggatgggt aactgtgtgt gcctccgtgc gtg
agacggacgt gggctcgggac tccgcctcgc acg
ccagtctcct tcttttaaaat ggaggggcgat cat
atgacggctg acgataagac gggcacagtg act
actaaaagac tacacacggt agttcagttt agg
gcggaaactg agggacagaa aaactaagta act
atggaacagt gaggctggga ttctgaacca ggc
accctggagt tgcagctggg gccaccctca ggg
gagttccaga tctgaactaa gaagagtagt taa
cccggctgcg tccccctctgg cgggaacagg gac
cagctcctcc cctcatccag gccgctgctg ccc
ctggctgacg tgaagagtg c tttgtttttt gtc
gggggtttctt cttttatttga aacactgggtg tcc
cctcaggaag tgctggcgcc cactcctgga aag
agaggctggg cgtgcattac tcagcaaatic ctt

```

10

20

30

40

acagtcctccc gacctcctgg aacttaggag gcctggcagg gaga

18404

<210> 2

<211> 18404

<212> DNA

<213> Homo sapiens

10

<220>

<223> genomic DNA

<400> 2

tctccctgac	cagcctccta	agttccagga	ggt
gggggctctg	taaggatttg	ctgagtaatg	cac
gctgtctcag	ccttttccagg	agtgggcggc	agc
tttactcccc	aggacaccag	tgttttcaaat	aaa
aaggaagagg	ggacaaaaaaaa	caaagcactc	ttc
caagaggata	agggcagcag	cggcctggat	gag
ctgaggagcc	tgctccctgtt	cccgccagag	ggg
gcttccggct	gttaactact	cttcttagtt	cag
gatacagggcc	ccccctgaggg	tggcccccagc	tgc
gggggtcagac	agcctggggtt	cgaatcccag	cct
gcaagtgacc	aagttactta	gttttttctgt	ccc
tgacagaagt	gcctagactg	aactaacgtg	tgt
agcgtgtgat	gagtcactgt	gcccgtctta	tcg
accaccctgt	tatgatcgcc	ctccatttta	aag
tcaccctccc	acgtgcgagg	cggagtcccg	acc
ttcacgcgag	gcacgcacgg	aggcacacac	agt
cccactcact	gggcaagcaa	agggcctcaga	ggc

20

30

40

tacaagagga gaagggctgg cccigccctgg ggccctggctg ggctatatac agggicaggg 1080

agagggtgggg	gggatgcagc	cattttaaat	aca	
ttgtgagtc	gtccatcgcg	aaatgcttcc	aca	
gggagtgagg	gagtgagagg	gtagctggaa	cct	
gctgggaagc	acagaatgag	gctgcggcca	ccc	
aaggacacag	ggcaggggcag	ggaggacacc	cag	
aggacagcac	cgctcacttc	ctcttgaggg	aac	10
gctgcttctt	cactttctcc	teccctcttgt	tct	
ccttggtgtct	gcagccgggt	gcagggggggc	aag	
cagcacagg	ggacccggca	ctggcagtc	cct	
agccacggtc	cctgcactag	actccaagct	cct	
gagtgcgctg	ctgggtacct	gcagaggccc	aca	
aacagaagg	gtgagaacca	agcctgaact	tga	
gtcctctcca	gaaagtgagg	atcgggctgg	gca	20
gcagtcagg	ccactcactt	ggacgagggtg	cgg	
gctgggggat	aggatgatgtt	cccgtactcc	gac	
agggacagt	ggaagggtggt	ggtcccagca	ggg	
cccccccccc	ccccaggccc	tgctctgcac	gca	
tggtttcaat	gaactgggcg	atggccacgt	aga	
ccatgcccga	gcgctgcgcc	cgcaccatct	gga	
ccaggccctgg	gtgggggggca	gtcaaacctc	agg	30
tgctcacccc	ccacccccca	acccccagggt	gcc	
tgagcatgtc	gatgacaatg	atgggtgcctg	tgc	
gggggtgccat	cagaggccag	tcaagccctc	ccc	
ccagccccag	gcaccacagg	agcagccctga	gcc	
ggtcaccggg	caagtgatga	tggagggtttg	ccc	
ggctctgcgg	tgctgacgct	ggctccccag	ctg	
gcgcccgaactc	ctcactccta	gtgagtggt	gcc	40
aatcccacca	ctgtcctgcc	ggctcccagg	tac	

ggagttaagg agcgctctc agcatggctt cacttccctt ttcttcaaa cctgacgic 2820

agggaaggga	tagccctgag	acagcagggt	gcg
agcagtgcag	taggaagttt	ctctcctttc	cca
ccccaggccc	accctcagct	gagcccagca	agc
tcaaacccag	attgtcaaaa	ataaccccc	aca
aaaggccatg	gggcctttcaa	gaagtgtgtg	aat
agctctcggg	gatgggcctg	tccctgagag	agc
cccatcgggg	gcacctctag	attcagccga	ctt
ggggaaggagg	aggaaggccag	aggccgtcgc	agg
ggaccgggggc	aaggcagggtt	cccatctccc	tat
agtaacagcg	cccagttttt	gagggcctgac	gga
tgagtctctca	cgacaaccct	gagatcctga	ttt
aagttaagta	atttgtccaa	gaccacacag	ctg
cctctcatcc	accagggcca	ggccagctca	gtg
cttgcagccc	ccacctctgc	accttaccag	agg
tagacagagg	agttatgtgc	agccccaag	aag
ggccaggatg	gggcactgcc	tgggggaagct	ggg
aagccctgcg	gctaccgatg	gaaaaagagg	agg
tcctggggaga	agaaaccaac	agaatgggac	ctc
ggcctactgt	gggtgcctgc	ccggcccttgc	cct
ggtcccgggc	tcctcctctg	tatttggcag	ggt
ctctgaggaa	gatacccaca	ggcagagggc	caa
cccagggttc	tggagccatg	aggggaccca	gga
aatgtgcgag	ctaacgttta	tattgcttat	aac
tctcagctgt	cactactacc	atcaggatta	tca
ccctgcgtga	ggcagacttt	cctgccgctg	gtt
cccaggctca	ctgggggaccc	catggtcggg	cca
ccgaatcagg	tctccctaag	ccgaggacat	agg
cctcatccat	ctcaccctac	ccgaccagag	agg

10

20

30

40

aatggggcag ggcgiggggg ccaticacat tgtccagcgg ggagaccigt aaggtaaggga 4560

g t t t g t a t t c	g g t t g t g t c a	t g c t c c c c g c	a g t
g c t g c a t g c c	c a c c t c g g g c	c a g t a t g g g a	c g c
g g g g a t g a g g	c a c a g a g c a g	g g c a c t g t g g	c c c
t g c c t g g c a c	c g g c c c a a a c	a t t t g t t g g a	t g g
a c c t g g g c t c	t c g t c t c a g a	t c a a c c a c c a	a c a
c c g g t a c a t c	c g t t t g t c a t	t c a a c a a a c g	t t g
t g c a a a c c a c	a c a g c t t c a c	a g a c a c a a a t	a a c
g a g c t c a c a g	a g a c a g g t g a	c c g g g g g a g a	c a c
c g t a a t t c t c	c c t c t a g g t c	c t g g a g g a a a	c a a
t c c g g c t g t g	t c t t c a a a a a	c g a g g c a t c t	g c c
t t c c t a g c a g	a a a a t g a g c t	t g t g c a a a g a	a a g
c t g g g g g c g g	t g a g c c t t c a	a g a g a a g c g t	g c g
a t g c c a g g c c	t t a g a g t g c g	a c t t t a t c c c	a a a
c a g a a a g g a a	g g a a c t t g a c	c c a g t t t g t g	t c a
a g a g g g t g c t	g t g t a g g g g g	a g c c t g c a g g	g t a
g g c a g g g a g g	a c a g g a g g g g	c c t g g a t g c a	g a c
g a c a g c c t g g	a a c c t g g g t c	t g g a g c t c a g	a a g
g g g t c a c g t t	g t g t a g t c g a	g a c t t t g t c a	c t a
c c c t c a c c c c	t g a g a t c c c t	t t c t g c c c t g	g c a
g a c c a c a a g c	a c g g g g g c g g	a t g c g g g g a a	g g g
c t c t c g g g t g	g t c a t g a c g a	t g a c a c g g c t	g t t
a t t g a c c g t g	g c c t c c a g a c	a a c c c t g g c t	g g c
g c c t a g c a g c	t g g t t c t g g a	c g c a a g c g t g	g a g
t g g c c c a g c a	c a g g c c c t g a	a c c a c t g c c a	c c c
t t t g c c c a g c	t g t c t c t g g a	t c t a g g g t c c	c c c
g c c t c t c c t c	c c a c g t g g c c	c a c a c t g c t g	a c c
g a c c c g g g g a	t g t t a c t g t c	c c g t c c c t g c	a g g
g g g c g g a g a g	g a g g c g a g a t	g g t c t g g g t t	a g c

10

20

30

40

```

cctcctgagc taacaggcca ttctggcttc agaagccaig aggcitgcgg gggactiggg 6300
gcagcagggg tgggggga tca tctgtatgga ggg
agcaggggggc aacctgccc tgc ctgggtgggtgg gga
ttggagaagg gggaggc tct gtgggggggtg tgg
tgagagacctg tgagatgagg ggaggcagct ggg
gcagccctggg tgctcacagg ggagaaatgtt ctt
ccgctgccc t tccagacgct ggtgcaagtt ctt
tgtgggtggg gaaatgagca tcagctccca aag
gggtgggtca ggagcagagg tgggcaaggga ggg
gctgccacca cctcagctgc cccagccctg ccg
ccagaaggcca gcccttggctg tatcctcggga ctc
gttctcaatg tcagccgcat tcaccctcgt ggc
agaagtcagc aactcagaga tcccagaagc tca
gggaggcagc tggggcccacc cctgacctgc cgc
tcaatcccccg tcttcttgaa atgctccacc agg
ccacccactg t gtagcgtcc accctggggg gag
gtctccctcc ctgggtcccc agccttgaat tca
acactgtggt cacagacagg agcctcagca gag
tcgcacatga ccttgatgtg ggtgacctg agc
tcactgagca cagaaagcac gaagtctcca ggc
gtccaggggct cgcccttggc ctgcagcagc gtc
tggtaccacc tagagaaggc agcgtcaggg aag
ctgagcagag acattcacag agaggggccg gaa
tgcgctacat gcttccaaat ccaccacctc att
taggtatgat attaccccca ttttatagat gag
ggcctagggc ccttgactga ctctaggggca agc
gtgcagtggc gcggttacag ctctctgcag cct
cctccagagt tctaaccggg cttcgaacc aga
gcaatat tca aaatat t tgg aggagagaag cta

```

10

20

30

40

tgigccccag cagagaccag aggcaaagag aaacgcagac cgaggccaca ccacagggag 8040

t g g t g g g a g a	t g g a c a c a c a	g a c t c a a g t c	a c a
a g g g a g g c g g	g g a a g a c a a c	c c c a c t g g g g	a a a
c t g g a t g a t g	t c a c t g a a g g	g g a g c c c a g g	g t t
c a g a a a g c a g	a a c t a a g c c c	t t t c c c c g a a	g c a
c c c c a c a a a g	c c c a g c c c c a	c a g g a a a c c a	c g t
g g g a g a g a g t	g a g a a g t g a g	g t t g t g a g g t	t t c
g c a a a t t t t c	c a a c c g c a g g	g a t g g g g g g a	a g g
t c t c a c c c c t	g c c c g g a g g t	g a c t c c a g c c	g a g
g g g c t a c t t c	a g c c c a c c g c	c t g g g g a c a g	g c t
g a g c c c c t t c	c c t c a g g c c c	c a g g a t g a g g	a a g
a g g a a g c g c a	g a g c c a c c g a	g g g a c a g a t g	c a a
c a a g g c a g a g	g a c a c a g c a g	a a c c t g g g a g	a a a
g g g t g a c a c t	g g c t c c t g g g	a c g g g t c a c c	c a a
c t t a a c c t c c	c g c c c c g g c a	c t g c c c t c c c	t t c
a c c c a g g c c t	c a g c c t c c t c	t g c a g g g g c c	t c c
c a g g c a c t g g	t c a g c c c g t c	c t c c t c t c c t	g g c
a g c t t t a g a g	g g t c t c g g t g	c c a a a a g c c c	c c t
c a g g g g g c a g	a c a c g g a g c c	a g c c a t g t g a	g g c
a g g c c g a t c c	a g g a a a g g a g	g c c t c c c a g g	t g g
c a g c t c t a a g	t t t c a a t c a g	t g c c t t g a c c	a a a
t c t c a g a g a g	g c t g c a a g c t	g g c a g g a g c a	a g g
t g a a t g c a g g	g a t c c a c g g c	a a g g g c a a g t	c g g
c c c t a g c g t t	a t t c c g c t g c	c c t t t a c t c t	a a g
g a a a g g a g c c	a t g g t g t c a t	g a g g a g c a t t	c a g
g g g a g a c c a c	a g g a g g a g t c	g g g g a g g c c a	c a g
t g c c c g g g a c	a g c g t g a g a c	a c t t t a c a c a	g g t
t c t c t g t t t g	g g c c g g a g a c	c t a t t t g a c c	c c a
c t g g g a c a a g	g c a t c a a g t g	t c t t g g c a a g	c a t

10

20

30

40

cicctcactg tcciaacaig tgciggggig aggggcagac ggaggaaggc aggcicgatt 9780

c c a g a g g a a g	a a g a g c t t t c	t a a c a a c a g a	g c t
a g t g g c c t c c	c t g t c t c c a g	t g g g a c c t g g	g t t
c g a g g c a g c t	t t c t g t g g c t	t c c t c g g g g t	t a g
a g a c a c c a g g	t c c c a g g a c a	g c a g g g a g g a	g g g
a g g g g a g g g g	a t g g a g g g t a	g g c a g c g c c g	g c t
c a g g g t g g g a	g c c g g c t c a t	c c c t g c t t g g	g a a
c a c t a g t g g g	a t c g g a g c a g	t t c a g c g g g t	a c t
c c t g c a g g a c	a c c c t g c t g c	t g a g t g t a g t	a c t
t c t c c c c t c c	a t a c a g g t c a	t a g a a a t c c c	c t g
g a t c c c c c a c	c c t g c a g g g c	a c c a g g c g g t	g a g
a g g g c a g g g a	t c g g c t g a g g	t c c t g g g t g g	g g g
a g g g a t g g g g	a g t g t g g g g g	t t g g g g g c a a	g g g
g g g a a c c a g g	a a t g a g t g g t	t c a g g g c c t g	g a t
g g g t t g c g g g	g g g c c c a c c t	a c c t g a c g g a	g a g
g g g c c g a g c c	a g g a a g c t a c	c g t g g a c a c c	t c g
c c c a c t g a g g	t c t c g g t g a a	a c c a c c t g g g	c g g
c g t g g g c a c c	a g g c a c c c t t	g c c t c c t g t c	t a c
t c c t g g g g g c	t t c c g g a g a g	g a a g g g g g c g	c a g
c a g g c a g a g a	g c t c a g g g a c	t a a g c c t c a g	a t g
a c c c c c g g t g	g t c c c a g t t c	t g g g g c t g c c	a c t
g g g g a c a g g a	a g a g g c g c g g	c c g a c c c c t t	g g g
a g c a c a g c a a	g g g a a g a g a a	g c a g a g c a g g	g t g
t c c c a c a c g t	c t g c a a t c a a	a g g c t c a g g a	g c a
g c a g t a a g g a	c a c a t g t g t g	c c t t g c a c a c	t c c
a a c c c a g a c g	g t c c c a c g g c	a t c t c t c c c t	c c t
c t g g c c c a c g	c t a a t a a c a a	t g a t g g c g g t	g a c
t g c c g g g c g c	t g t g c t a t a a	t g g c g t t c a c	a t g
c c c t a t g a a a	c a g g g g c t a t	c t t t a t c a t t	t t a

10

20

30

40


```

ttaaaggcat igcctgagtc catcagtgag tcagctgcag igccaggatt caaaccaga 11520
cagtc cgggtt ccaaagccag tgc tttgaac tcc
aacagagatt aagagcctcc ttgtccaaag ggg
taagaccttg ccaatgcttg caagagagaa ggg
ttgtccatgc cactgtggca gagggatgga caa
gggtccctttc taattctttgt ccctaggcct ctg
cctatctcct ggggggctggg ggacaagggtc ctc
tgatcttaga ggccctaaac actaagggtat atg
aaacatcaac accgccaaac caaaacgagg aaa
acacatatatg gtggctttccc ctagggagggg aaa
gagacacttg gttctctaca taccttttttg aat
ataaaaaataa atatgctaac tgggaacaat ttc
ctcttttgtct ctatctggat gctgttttgca tgg
cgcagtggtc cacgcctgta atcccagcac ttt
gtcaggagat cgagaccatc ctggccaaca tgg
aaaaaaaaattag ctggggcatgg tgggtgggcgc ctg
caggagaatc acttgaaccc aggaaggccga ggt
actccagcct ggcaacacag taagactcta ttt
ttgtgtgctt aataatttatg aacattatgc atg
ttttaagccc aacaagtcta attttcccat gat
aaacatcaat gtttttcccc aaaaaaggct ttt
at ttgttttct ggtttttcttc tctcactggt gcc
gcatgggtcca gcttttgacta ccccttccagc ttg
gcgggaacccc cacgcccacac gccaaaggagc aag
gcggggacacc cgctgggcgct ctcgctcatc tcg
ggcactgagc aagtgtttcaa caaacaagct cgt
agtacagctt cctgggtccta cacacacagc ctg
cacagtcaca gcacacacac ctcatcatcc atg
gcacatcccc acgcatggaa cataaatctg acc

```

10

20

30

40

```

gcaccaaacg cccactgcac cctggcccca agacactcct tccagggcct aaacccacit 13260
ggtgggaagg aattaactcg gcacccagaa gaa
tggaagaggc aggaattcct ctgaagggtg tca
gtacagcttc tgctatcctt tggcaggaaa ata
gtgtgggggtt tgcagatcac tttcacatac acg
tgatgtagga atcatttttcc ccatTTTTctt atg
aattacaaga gtaaattgcct gataattcag aag
gataaaaagta gagatcaagg ccaggcgagcagg tgg
ggggggtgagg ctgggtggatt acttgacacc aag
aaacccctgtc tctacaaaaa atacaaaatt tag
cccagggtact tgggagactg agatgggagg atc
agtgagccat ggttgtgcca ctgtaatccg gcc
aaaaataaaa atacagctgg gcgcagtgac tta
ccgagggtggg aggatcactt gaggtcaggga gtt
ccccatctct actagcctgt aatcccagct tct
gatcatgcca ccgcactcca gcctggggcaa cag
aattaaaaaac catacagatc aagatcaatg gtg
gcaaacaggc caaaataatc tgtagaaagt tct
gcctgacaaa tgagcttaac aatatTTTccc aaa
agggttttcag tgctgccagc tttttacatta tac
gtaggtgtta ttcacccaat ttttagaaaca gaa
gccaagggtc acaagctagt gagtaggaag gtg
gcctgggtgcc ctttccccca acaaccatac tgc
tggggcactgc cacagcccat gatggaagggt gga
tgggtcaggg caaagagggtg gcacgcacag agt
aagccatgtg gctggagcaa agttgttctg aga
tcaaggccag gctgagaaac caaggatgaa atc
cctgggcaggaa aaatgaccac agacgggatac agg
cgggtgggggcc gacagtgaca agatgtgcac tgg

```

10

20

30

40

caagaatcag cagggctagg gagccacca cccacaaact cgccagtact ctgtaagcag 15000

g t t g t c a c t t t	t t t c t t t t t c t	t t t t t t t t t t t	t t t
c a g g c t g g a g	t g c a g t g a c g	c a a t c t c g g c	t c a
c a a t t c t c c t	g c c t c a g c c t	c c c t a g t a g c	t g g
g c c t a a t t t t	t t t t t t g t a t	c t t t a g t t g a	g a c
t c t t g a a c t c	c t g a c c t c g t	g a t c c a c c t g	c c t
g c t t g a g c c a	c c a t g c c c a g	c c g g t t g t c a	c t t
c t t t t t c t t t	t t c t t t c c t t	t c t t c t t t c g	a c t
t t c t t t t c t t	t c t t t c c t t c	c t t c c t t t t c	t t t
c t t c t t t c t c	t t t t t c t t t c	t t c c t t c c c t	t c c
t t t t t t t g a c	a c a g a a t c t t	g c t t t a t c a c	c c a
t c a c t g c a g c	g t c g a c c t c c	t t g g c t c a g g	t g a
t g a g a c c a c a	g g t g c a t g c c	a c t a c a t c c a	g c t
t c g t a g t a g a	g a t g a g g t c t	c t c c c t a t g t	t g c
a a g t g a t c c t	c c c a c c t c a g	c c t c c c a a a c	t g c
t a c c c a g t a t	t t t t t t t t t a a	t a g a g a t g g g	g t c
a c t c c t g a g c	t c a a g c a a t c	t t c c c c c t t c	g g c
g c g c c a c c t c	a t c t c g t c a g	g t t t t c a c t t	t c a
t g c t g t g g c c	c t g c c t c c g c	t c c a c t a g g g	t c c
t g t t t g t t c c	c a c a t t a g g g	c t t t g t g c t c	a c c
c t t g a t c a c t	a c g t c a c a t g	g c c a g c t c c t	c t t
g t c a c c t c c t	c g g g a a g g c c	t c c c t g a t c c	c t c
g t c a c t t g c t	a g c a t a t g a a	g c t g g t t c a t	t t t
g t c t c a c t c t	g t c g c c c a g g	c t g g t g t g c a	g t g
a c c t c c c a g g	c t c a a g c a a g	c c t c t c a c c t	t a g
t g t g c c a c c a	c a c c c a g c t a	a t t t c t t a t t	t t t
c c a g g c t g g t	c t c a a a c t c c	t g g g c t c a a g	c a a
t g g g a t c a c a	g g t g t g a a c c	a c t a c a c c c g	g c c
t c t g a g a a t c	t g c a a t g a t c	c a a t t t a t t g	g g t

10

20

30

40

ggaatgtaag ciccgtgaga gcagagacca tgcicgtctt gttcactcca gtattaccag 16740

c a t c t t a a a c	a g c a c c t g g t	g c a t a a t a g a	t g c
g c a g g g g a a a	g g g a a g t g a a	a g g a a a c a a a	g a a
g t g c g g a g a a	g t t g g c t g g a	c g t g g g a g g g	c c t
t g a g g t g t t g	t g a g c t a c c c	a g g g g g a c a g	g t c
a g a g g c t g g a	a g t a g a a a t g	c a a t g g a g a g	a a c
t t a a a g a g g g	g g c a g a g g a g	c a t g a g t g a g	c c g
a a g t t c a t a g	g g a c c g g a a a	c a g g c g c a g g	g c a
c g t c g g a g t g	a g c a t c a a c a	a a g c c c t c c c	t c c
c c g a t g g t g c	c c g g g a c t t a	c c c a c g g g a c	a g c
g g c g g a g g g c	c g c a g g g g g c	g g g g c t g a g c	c a g
c c a g g t g a g g	a a g a a c c g c t	c a g t a a t c a g	c c a
c a a t g g c a c t	g c a g g g a c a a	a c c c t g g a c t	a a t
g g g g c t g g c c	c g a g a c c g c c	c a c a g c g g c c	a g c
a g c a g g c c c g	c c t g c t g g t c	c a g g g c c g c c	t t c
c t c c a c c t g g	a g c t c a a g c t	g a c a g a g c g g	c g g
a g t a a c c c t g	g c t g a g g a a g	a g c a a c c a a t	g g g
a g g g c c t a a g	g a a a a t c c c t	a a c a g c c c a g	t t c
g g c c c a c c c a	c c c a g g g c g c	t g a g g g a c c c	a c t
g g g g a g g a g c	c t c a g g t a g g	g t t a g g c c c t	g g g
g g g a g g a g c t	g t t c a g g g g g	a t g g g g c c t g	g a a
t g g g g g t t g t	c a g g t c c g c a	a g a g a c t g a c	a c c
t t g t c t g g a a	c a t c a a g g c c	t t t c c t c c c c	t g g
a g g a g g c g g c	c a c g c t g c c a	c c a g c a g c a g	g c c
g a a a c a g c g c	c t t c a g c t t g	c c t g a c a g g c	t g g
a c t t g a c c a a	g c g a g c a a a c	t t a a g g a c a c	c t g
t c c t a a g g a c	c a g c g t g c c t	a a g a c a c c t g	g a g
c c c c c a c t g g	c t g g g c a g c t	g t t t g c c a a a	c a g
g t t t g g a t g a	t g a c a t t t g g	t c t a c a c t g g	g c a

10

20

30

40

<210> 3

<211> 1794

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> complementary DNA

10

<400> 3

```

atgctgtccc gtgggtggtt tcaccgagac ctc
aagggccgag gtgtccacgg tagcttcctg gct
ttctcgcctct ccgtcagggt ggggggatacag gtg
gattttctatg acctgtatgg agggggagaag ttt
tacactcagc agcagggtgt cctgcaggac cgc
ccgctgaact gctccgatcc cactagttag agg
caggcagaga cgctgctgca ggccaaggggc gag
ctcagccagc ctggagactt cgtgcttttct gtg
ggctccccgc tcagggtcac ccacatcaag gtc
ggtgggtttgg agaccttcga cagcctcacg gac
attgaggagg cctcaggcgc ctttgtctac ctg
aatgcggctg acattgagaa ccgagtgttg gaa
acagccaagg ctggcttctg ggaggagttt gag
ttgcaccagc gtctggaagg gcagcggcca gag
attctccccct ttgaccacag ccgagtgatc ctg
tccgactaca tcaatgccaa ctacatcaag aac
aagacctaca tcgccagcca gggctgtctg gag
gcgtggcagg agaacagccg tgtcatcgtc atg
aacaaatgcg tcccatactg gcccagggtg ggcaigcagc gtgcttatgg gccctactct 1140
gtgaccaact gcgggggagca tgacacaacc gaa

```

20

30

40

```

ccgctggaca atggagacct gattcgggag atc
gaccatggggg tccccagtgag gcctggggggt gtc
cggcagggaag gtctgcctca cgcaggggccc atc
cgcacaggga ccatcattgt catcgacatg ctc
gactgtgaca ttgacatcca gaagaccatc cag
gtgcagacgg aggcgcagta caagtctcatc tac
actaagaaga agctggagggt cctgcagtcg cag
atcacctatc ccccagccat gaagaatgcc cat
cacaaggagg atgtgtatga gaacctgcac act
aagcagcgggt cagcagacaa ggagaagagc aag

```

10

<210> 4

<211> 595

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 4

```

Met Arg Trp Phe His Arg Asp Leu Ser
  1                               5

```

```

Leu Lys Gly Arg Gly Val His Gly Ser
                20                25

```

30

```

Lys Asn Gln Gly Asp Phe Ser Leu Ser
      35                40

```

Thr His Ile Arg Ile Gln Asn Ser Gly Asp Phe Tyr Asp Leu Tyr Gly

50

55

Gly Glu Lys Phe Ala Thr Leu Thr Glu

65

70

Gln Gln Gly Val Leu Gln Asp Arg Asp

85

10

Tyr Pro Leu Asn Cys Ser Asp Pro Thr

100

105

His Met Ser Gly Gly Gln Ala Glu Thr

115

120

20

Pro Trp Thr Phe Leu Val Arg Glu Ser

130

135

Val Leu Ser Val Leu Ser Asp Gln Pro

145

150

30

Leu Arg Val Thr His Ile Lys Val Met

165

Val Gly Gly Leu Glu Thr Phe Asp Ser

180

185

Phe Lys Lys Thr Gly Ile Glu Glu Ala

195

200

40

Arg Gln Pro Tyr Tyr Ala Thr Arg Val Asn Ala Ala Asp Ile Glu Asn
 210 215

Arg Val Leu Glu Leu Asn Lys Lys Gln
 225 230

Ala Gly Phe Trp Glu Glu Phe Glu Ser
 245

10

Asn Leu His Gln Arg Leu Glu Gly Gln
 260 265

Asn Arg Tyr Lys Asn Ile Leu Pro Phe
 275 280

20

Gln Gly Arg Asp Ser Asn Ile Pro Gly
 290 295

Tyr Ile Lys Asn Gln Leu Leu Gly Pro
 305 310

Ile Ala Ser Gln Gly Cys Leu Glu Ala
 325

30

Met Ala Trp Gln Glu Asn Ser Arg Val
 340 345

Val Glu Lys Gly Arg Asn Lys Cys Val
 355 360 365

40

Met	Gln	Arg	Ala	Tyr	Gly	Pro	Tyr	Ser
	370					375		

Asp	Thr	Thr	Glu	Tyr	Lys	Leu	Arg	Thr
385					390			

Asn	Gly	Asp	Leu	Ile	Arg	Glu	Ile	Trp
				405				

10

Pro	Asp	His	Gly	Val	Pro	Ser	Glu	Pro
			420					425

Leu	Asp	Gln	Ile	Asn	Gln	Arg	Gln	Glu
		435					440	

20

Ile	Ile	Val	His	Cys	Ser	Ala	Gly	Ile
	450					455		

Val	Ile	Asp	Met	Leu	Met	Glu	Asn	Ile
465					470			

30

Asp	Ile	Asp	Ile	Gln	Lys	Thr	Ile	Gln
				485				

Gly	Met	Val	Gln	Thr	Glu	Ala	Gln	Tyr
			500					505

10

20

30

40

40

40

40

40

40

40

40

40

40

t t a t t t a g t t g t g t t t a g t g t a g a t t a a a t g t t

ttgtatgcgt ttgttttggg aaatagttgt ttagttagt ggggagtagt ttagtttag 120

a t t a t t a t t t	t t t t t a g g t g	t t t t a g g t a c	g t t
a t t t t t t t t t	g t a g g t g t t t	t t a a g t t t g t	t c g
t t t t g a g a t c	g t t a g t t t g t	t a g g t a a g t t	g a a
g t t a t t t t a t	g g g t t t g t t g	t t g g t g g t a g	c g t
t t g t g t t a t t	g t t a g g g g a g	g a a a g g t t t t	g a t
g a t t t a g t t t	t g g t g t t a g t	t t t t t g c g g a	t t t
t t t t t t t g t t	t t t t t a g g t t	t t a t t t t t t t	g a a
t t t a a t t t t g	t t t t a g g g t t	t a a t t t t a t t	t g a
t g a g a g g t t g	g a g t g g g t t t	t t t a g c g t t t	t g g
t t t t t t t t g a	g g a a t t g g g t	t g t t a g g g a t	t t t
g a g a g g t t t t	t t t t a t t g g t	t g t t t t t t t t	t a g
t a t t t a a t a t	t t c g t c g t t t	t g t t a g t t t g	a g t
t t t t t t c g g g	g g a a g g c g g t	t t t g g a t t a g	t a g
g t t g t a g g g a	a g t t g g t c g t	t g t g g g c g g t	t t c
t t t t g g a g a t	t a t t a g t t t a	g g g t t t g t t t	t t g
c g a g g a g g a a	g t g g t t g a t t	a t t g a g c g g t	t t t
t a g t t g t g t c	g t t g g t t t a g	t t t c g t t t t t	t g c
t a t a g a g a g a	t g t t g t t t c g	t g g g t a a g t t	t c g
t a g t t t t g g a	g g g a g g g a g g	g t t t t g t t g a	t g t
c g a t t t g t c g	t t g t t t t g c g	t t t g t t t t c g	g t t
g t g a g g a t t t	t c g g t t t a t t	t a t g t t t t t t	t g t
a g t g t g t a t t	t g t t t t t t t t	a t t g t a t t t t	t a t
t t t t t g t t t a	g g a t t t g t t t	t t t t g g g t a g	t t t
g t t a t t c g c g	a a g g t t t t t t	t a c g t t t a g t	t a a
t t g g t t t t a t	t t t t t t t g t t	t t t t t t t a t t	t t t
g t a c g t g t t g	a g t a t t t a t t	a t g t a t t a g g	t g t
g a a t a a g a t a	g a t a t g g t t t	t t g t t t t t a c	g g a
t c g a a t a a a t	a a t t t a a t a a	a t t g g a t t a t	t g t

10

20

30

40

tagatagittt tggcgggtg tagtgggtta tatttgtgat tttagtattg tgggaggttg 1860

aggcgagagg	attgttttgag	tttaggagtt	tga
ttgttttttat	aaaaaaaaataag	aaatttagttg	ggt
ttatggagag	gttaagggtga	gaggttttgtt	tga
gatgattgta	ttattgtata	ttagttttggg	cga
aaaaaaaaaaaa	gaaaaatgaat	tagtttttata	tgt
attatttagtt	ggaggggatta	gggagggtttt	ttc
ggatgaggag	gaagaggaggt	tggttatatgtg	acg
gtagaggaga	tggtgagtata	aaagtttttaa	tgt
ttcgtggtag	aggatttttag	tggagcggag	gta
agttaggatg	ttgaaagtga	aaattttgacg	aga
tatttttggga	ggtcgaaggg	ggaagatttgt	ttg
taatatagag	agatttttatt	tttatttaaaa	aaa
tggtagttttt	agtagttttgg	gaggtttgagg	tgg
gattatttttg	ggtaatatag	ggagagatttt	tat
tatttaataaaa	tagttggatg	tagtggtatg	tat
aggtaggagg	attattttgag	ttaaggagggt	cga
gtatttttagt	ttgggttgata	aagtaagattt	ttg
gaaggaaaga	aggaaggggaa	ggaagaaaga	aaa
cgagaaagaa	gaaagaaaaag	gaagggaaggga	aag
aagtgatattt	tagtcgaaag	aagaaaggga	aga
gaaaaaaagaa	aaagtgatata	tcggtttgggt	atg
ttgggagggtc	gaggtaggtg	gattacgagg	tta
ggtgaaatttt	tgtttttaatt	aaagatatata	aaa
atttgtgagt	tttagtttatt	agggagggttg	agg
ggagggttgta	gtgagtcgag	attgcgtttat	tgt
ttttattttta	aaaaaaaaaaaa	aaaaagaaaaa	gaa
ggcgagttttg	tgggtgggtg	gttttttttagt	ttt
ttgttttttgt	tttagtgtat	atttttgtttat	tgt

10

20

30

40

gttttttgggt ttttgatttc gtttgigggtt atttttttgt taggtagttt ggtaggttt 3600

t t t t t g g t g t	a g a t t t t a t t	t t t g g t t t t t	t a g
g g g t t t t t a t	t t t t t a g a a t	a a t t t t g t t t	t a g
t g t t t a t g t g	g a t t t t g t g c	g t g t t a t t t t	t t t
g t a t t t t t t t	t t t t a t t t t t	t a t t a t g g g t	t g t
c g t t g t t t g t	t g t a g t a t g g	t t g t t g g g g g	a a a
c g t g t t t t a t	t t a t t t t t t t	a t t t a t t a g t	t t g
t g a g t t t t a g	t t t t t g t t t t	t a a a a t t g g g	t g a
g a g g a t t a a t	a g t a t a a t g t	a a a a g t t g g t	a g t
t t a t a t t a g t	a t t t g g g a a a	t a t t g t t a a g	t t t
a g a g t a g t t t	t a g a a t t t t t	t a t a g a t t a t	t t t
t t t t t t t g t a	t t a t t a t t g a	t t t t g a t t t g	t a t
g g a g t t t t a t	t t t g t t g t t t	a g g t t g g a g t	g c g
t t t a t t t t t t	g a g a a g t t g g	g a t t a t a g g t	t a g
a g t t g g t t t c	g a a t t t t t g a	t t t t a a g t g a	t t t
g a t t a t a g g t	g t a a g t t a t t	g c g t t t a g t t	g t a
t t t g t t a t t t	a g g t c g g a t t	a t a g t g g t a t	a a t
t a g g t t t a a g	c g a t t t t t t t	a t t t t a g t t t	t t t
a t t a t a t t t g	g t t a a a t t t t	g t a t t t t t t t g	t a g
t t g t t t t t a a	a t t t g g t g t t	a a g t a a t t t a	t t a
a t a g g c g t g a	g t t a t t g c g t	t t g g t t t t g a	t t t
a a t a t t t t t t	t t t t t t g a a t	t a t t a g g t a t	t t a
t t g t t t t t g t	t t a t a a g a a a	a t g g g g a a a a	t g a
t t a a a t g a g a	t c g t g t a t g t	g a a a g t g a t t	t g t
a g g t a g t t t t	t t a t t t t t t t	g t t a a a g g a t	a g t
g t t t t t t g g t	t t g a t a t t t t	t t a g a g g a a t	t t t
g t t t a g t t a g	t t t t t t t t g g	g t g t c g a g t t	a a t
t g g a a g g a g t	g t t t t g g g g t	t a g g g t g t a g	t g g
a t t t c g t g t g	t g g t t a g a t t	t a t g t t t t a t	g c g

10

20

30

40

gtgtaggtag atatggatga tgaggtaggt gtgtgtgat tgtgtgtgta ttttgtttg 5340

c g t a t g a t a a	g t a g g t t g t g	t g t g t a g g a t	t a g
g t t a t g g a t t	g a c g a g t t t g	t t t g t t g a a t	a t t
t t t g a a t a t t	t c g a g a t g a g	c g a g a g c g t t	a g c
t a t g t g t t t t	t t t t g t t t t t	t g g c g t t g g g	c g t
g g g g t g g t g t	t t a a g t t g a a	g g g g t a g t t a	a a g
a g a t t t t t t a	g g g t a t t a g t	g a g a g a a g a a	a a t
a a g a a a a g t g	g a a a a g t t t t	t t t t g g g g g a	a a a
a t a a t g t a g t	t a t t a t g g g a	a a a t t a g a t t	t g t
t t g a a g t a g a	a t a t g t a t a a	t g t t t a t a a a	t a t
t t t t t t t t t t	g a a a t a g a g t	t t t a t t g t g t	t g t
g g t t c g t t g t	a a t t t t g g t t	t t t t g g g t t t	a a g
a g t t g g g a t t	a t a g g c g t t t	a t t a t t a t g t	t t a
a g g g g g t t t t	a t t a t g t t g g	t t a g g a t g g t	t t t
t t t g g t t t t t	t a a a g t g t t g	g g a t t a t a g g	c g t
t t t a t a t a t a	t t t a t g t a a a	t a g t a t t t a g	a t a
a a a g t t t t t t	a g a a a t t g t t	t t t a g t t a g t	a t a
t a t t a t a t a a	t a t t t a a a a a	g g t a t g t a g a	g a a
t a g t t a t t t a	g t t t t t t t t t	t t a g g g g a a g	t t a
g t t g a g t t g t	t t t t t t t c g t	t t t g g t t t g g	c g g
g t a g g t a g t a	t t a t a t a t t t	t a g t g t t t a g	g g t
t t a g t t a t g g	t g a g g a t t t t	g t t t t t t a g t	t t t
t t g g g g t a g g	g t a g a g g t t t	a g g g a t a a g a	a t t
t t a g g g t t a t	g t t g t t t a t t	t t t t t g t t a t	a g t
a g a g g a g g g t	a t t t t t t t t t	t t t g t a a g t a	t t g
t t t t a t g g t a	g t t t t t t t g g	a t a a g g a g g t	t t t
g t t g g t g t a t	a g g a g t t t a a	a g t a t t g g t t	t t g
g g t a t t g t a g	t t g a t t t a t t	g a t g g a t t t a	g g t
t t t t t t g t t t	g t a a a a t g a t	a a a g a t a g t t	t t t

10

20

30

40

attagataag gtatgtgaac gttattatag tatagcgttc ggtattitagt aggatttatt 7080

c g a t g a t a g t	t g t t a t c g t t	a t t a t t g t t a	t t a
g t a g t t g g t g	g a g g a g g g a g	a g a t g t c g t g	g g a
t a t t t g g g t t	t g g a g t g t g t	a a g g t a t a t a	t g t
g t g t a a t g t t	a t g t t t t t g a	g t t t t t g a t t	g t a
a t t t t t a g t g	t t a t t t t t g t t	t t g t t t t t t t	t t t
a a g t g a g t t t	t t t t a a g g g g	t c g g t c g c g t	t t t
t a g g t t a g t g	g a g t g g t a g t	t t t a g a a t t g	g g a
a t t g g g a g t t	g t a t t t t g a g g	t t t a g t t t t t	g a g
t t t t t t a t t t	t t t g c g t t t t	t t t t t t t t t c	g g a
t g t t a t t t a c	g g t a g a t a g g	a g g t a a g g g t	g t t
t t t t g t t t g g	g t c g t t t a g g	t g g t t t t a t c	g a g
t g t t t a a g g g	t c g a g g t g t t	t a c g g t a g t t	t t t
g t g a t t t t t c	g t t t t t c g t t	a g g t a g g t g g	g t t
t t t t t t g t g t	t a t t t a g g t t	t t g a a t t a t t	t a t
t t t c g t t t g t	t t t t t t g t t t	t t a a t t t t t a	t a t
g t t t a t g t g t	g t t t t t a t t t	a g g a t t t t a g	t c g
t a t c g a t t g g	t t t t a t c g t t	t g g t g t t t t g	t a g
g a t t t a g a a t	t t a g g g g a t t	t t t a t g a t t t	g t a
a g a g t t g g t g	g a g t a t t a t a	t t t a g t a g t a	g g g
t a t t t a t t t t	a a g t a t t c g t	t g a a t t g t t t	c g a
t a t t t t c g t t	a t t t t t a a g t	a g g g a t g a g t	c g g
g g g a g a t t g g	t a g t c g g c g t	t g t t t a t t t t	t t a
g t t t t t a a t g	t t t t t t t t t t	t t g t t g t t t t	g g g
a t t t t t t t t a	t t t a a t t t c g	a g g a a g t t a t	a g a
t t g g t c g t t g	t a a t t t a g g t	t t t a t t g g a g	a t a
t c g t g t a g g t	t a g t t t t g t t	g t t a g a a a g t	t t t
t t t c g t t t g t	t t t t t a t t t t	a g t a t a t g t t	a g g
g a t g g g g a t g	a a t g t t t g t t	a a g a t a t t t g	a t g

10

20

30

40

egtttgtttt gtggggttaa ataggttttc ggtttaaata gagattattg agagtacgat 8820

gtgaagtgtt	tatttgtgta	aagtgtttta	cgt
gtattttttt	tttgtggttt	tttcgatttt	ttt
ggttgggggt	tttgaatgtt	ttttatgata	tta
tgtttagattt	tttttagagta	aagggttagcg	gaa
tttggggttaa	gtcgaatttgt	ttttgtcgtg	gat
atgatacggga	attttgtttt	tgtttagtttg	tag
gtatttaatat	tttttgggttaa	ggtatttgatt	gaa
agtttttgtgg	tttattttggg	aggtttttttt	ttt
ttttttttgtg	agtttttata	ggttgggtttc	gtg
tcgtaataatt	taggggggttt	ttgggtatcga	gat
tttttgttttt	agtttaggaga	ggaggacggg	ttg
gtaggggtttt	aggagggtttt	tgtagaggag	gtt
agagagagaaa	ggaaggggagg	gtagtgtcgg	ggc
tgagagggttt	tttggggtgat	tcgtttttagg	agt
gtgagagggtt	ttttttttttta	ggtttttgttg	tgt
tttgcgagaaa	tttgtattttg	ttttttcggtg	gtt
ttgtatggag	attttttttat	tttgggggttt	gag
tttgggggttt	tagttttgttt	ttaggcggtg	ggt
tttgggggggtt	tttcgggttgg	agttatttttc	ggg
ggttttttttt	tttttttttttt	tatttttttgcg	gtt
tttggggttga	ggaaaattttta	taatttttatt	ttt
ttttttttttat	tacgtgggttt	tttgtgggggt	tgg
ggaaagggggt	gtgttttcggg	gaaagggtttt	agt
aaatttcgttt	gaatttttggg	ttttttttttta	gtg
ttataattatt	tttttttttttag	tgggggttggtt	ttt
ttcgttttttt	ttgtgattttg	agttttgtgtg	ttt
ttcgggttttgc	gttttttttttt	gttttttgggtt	ttt
agattttattt	ttagtttttttt	tttttttaaat	att

10

20

30

40

tagaggiggg ttiggggttc gaagttcggt tagaattttg gaggttagga tggtttgaat 10560

t t g g g a g g t c	g a g g t t g t a g	a g a g t t g t a a	t c g
g a g t t t t g g a	a g t t t g t t t t	a g a g t t a g t t	a a g
g c g t t a g t t t	t t t t a t t t a t	a a a a t g g g g g	t a a
t g a g a g a t t t	a a a t g a g g t g	g t g g a t t t g g	a a g
a g g t g t t t g a	t t t t c g g t t t	t t t t t t g t g a	a t g
t t g g g t t t t a	t t t t t t t t g a	c g t t g t t t t t	t t t
g g g t a g g t a g	a g a c g t t g t t	g t a g g t t a a g	g g c
a g t t t t a g t t	a g t t t g g a g a	t t t c g t g t t t	t t t
t t a g g t t t t t	c g t t t a g g g t	t a t t t a t a t t	a a g
g g c g g g g g a g	t t t t t g t t g a	g g t t t t t g t t	t g t
t t g t t t g g g t	t t g a a t t t a a	g g t t g g g g a t	t t a
g t t t a a t t t g	g t t t t t t t t a	g g g t g g a c g t	t a t
a g t t t t a c g g	a t t t g g t g g a	g t a t t t t t a a g	a a g
t t t g t t t a t t	t g c g g t a g g t	t a g g g g t g g g	t t t
t t t t t t a g a t	g t g a g t t t t t	g g g a t t t t t g	a g t
a g t c g t a t t a	t g t t a c g a g g	g t g a a t g c g g	t t g
a t a a g a a g t a	g g a g t t c g a g	g a t a t a g t t a	a g g
a t g g t g g g g a	t c g g t a g g g t	t g g g g t a g t t	g a g
c g g a t a t t t t	t t t t t t t t t g	t t t a t t t t t g	t t t
a t g g a t g t t t	t t t t t g g g a g	t t g a t g t t t a	t t t
a g t a g g a g g t	g a a g a a t t t g	t a t t a g c g t t	t g g
a g a a t c g t t a	t a a g a a t a t t	t t t t t t t g t g	a g t
a t c g t t t t t g	t t t t a g t t g t	t t t t t t t t a t	t t t
g g g t t a t t t t	t t t a t a t t t t	t t a t a g a g t t	t t t
t t a g a a g t g t	t t t t t t a t t a	t t a g t a g g t a	g g t
a t t t t t t t a t	t t t t t t t a t a	t a g a t g a t t t	t t t
g t t t t a t g g t	t t t t g a g a t t	a g a a t g g t t t	g t t
g t g a g t t t t t	g g t t a a t t t a	g a t t a t t t c g	t t t

10

20

30

40

agtcgagiga tttttagggg acgggatagt aatatitcgg ggttcgatta tattaatgtt 12300

a a t t a t a t t a	a g g t t a g t a g	t g t g g g t t a c	g t g	
t t t g t t t g g t	g g g g g g a t t t	t a g a t t t a g a	g a t	
t g t a t g g g t g	a g g g t g g t a g	t g g t t t a g g g	t t t	
g g g g t g c g t t	t t t t t a c g t t	t g c g t t t a g a	a t t	
a g a t t t a t a t	c g t t a g t t a g	g g t t g t t t g g	a g g	
c g t g g t a g g a	g a a t a g t c g t	g t t a t c g t t a	t g a	10
t a g g g c g t t t	t t t t t t t t t c	g t a t t c g t t t	t c g	
g a g t a g t t a g	a t g t t a g g g t	a g a a a g g g a t	t t t	
a a a t t g a g g g	t t a g t g a t a a	a g t t t c g a t t	a t a	
a t t t t t g g g t	t t t t t t g a g t	t t t a g a t t t a	g g t	
t t g t t t t a t t	t g t t t g t a t t	t a g g t t t t t t	t t g	
a g t t t g t t t t	t t a t t t t g t a	g g t t t t t t t t	a t a	
g a t t t t a t t c	g t g a t a t a a a	t t g g g t t a a g	t t t	20
t t t t g g t t a t	t t t t g g g a t a	a a g t c g t a t t	t t a	
t t t t t t t g a t	t c g t a t g t t t	t t t t t g a a g g	t t t	
a g g t t t t t a g	t t t t t t t t t g	t a t a a g t t t a	t t t	
t a t t t t t g t t	t g g t a g a t g t	t t c g t t t t t g	a a g	
g a a t t t a g g t	t t t g t t t t t t	t t a g g a t t t a	g a g	
t t t t t a g c g c	g g t g t t t t t t	t c g g t t a t t t	g t t	
a t a g a t t g g g	t g t t a t t t g t	g t t t g t g a a g	t t g	30
g t t t g t t t t g	g t a a c g t t t g	t t g a a t g a t a	a a c	
g t t t t a t t a t	t t g t t g g t g g	t t g a t t t g a g	a c g	
a g t t t a t t c g	t t t a t t t a a t	a a a t g t t t g g	g t c	
g g a t t t g g g a	t g g g t t a t a g	t g t t t t g t t t	t g t	
t t a g a a t a a a	t g c g t t t t a t	a t t g g t t c g a	g g t	
t t t t g t g a t t	a a t t g c g g g g	a g t a t g a t a t	a a t	
t t t t t c g t t g	g a t a a t g t g a	g t g g t t t t t a	c g t	40
g g a t t t g t t t	t t t t t t t t g g	t c g g g t a g g g	t g a	

ggggtatiga ttttaigtitt tgggtttagg gagattgat tggggagatt tgggtattatt 14040

ag t a t t t g a g	t t g g t t c g a t	t a t g g g g t t t	t t a
t g g a t t a g a t	t a a t t a g c g g	t a g g a a a g t t	t g t
g t a g g t g a g g	a t g a t a a t t t	t g a t g g t a g t	a g t
t g t t a t g a g t	t g t t a t a a g t	a a t a t a a a c g	t t a
t t t t c g g t t t	t t t t t g g g t t	t t t t t a t g g t	t t t
t t a g t t t t a t	t t t g g t t t t t	t g t t t g t g g g	t a t
t a t t t c g t t t	a a t t t t g t t a	a a t a t a g a g g	a g g
t t a a g t t a g t	t a g g g t a a g g	t c g g g t a g g t	a t t
c g t t t t t t t t	c g a g g t t t t a	t t t t g t t g g t	t t t
t g t t t t t t a t	t t t t t t t t t t	t t t t t a t c g g	t a g
t t g t t t t t t t	t t t t a g t t t t	t t t a g g t a g t	g t t
g a t g g g t g a t	g t t t t t t t g g	g g t t g t a t a t	a a t
t g a t t a g g a g	a t t t t t g g t a	a g g t g t a g a g	g t g
a t a g g t g a g t	t t a t t g a g t t	g g t t t g g t t t	g g g
t t t t c g t t t a	t t a g t t g t g t	g g t t t t g g a t	a a a
t t t t a t t t g t	a a a a t t a g g a	t t t t a g g g t t	g t c
g t g g t t g g a a	t t t c g t t a g t	t t t t a a a a a t	t g g
t t a g g t a g a g	a a t a g g g g a a	t g g g a a t t t g	t t t
t g g a t t t t a g	g t t t g c g a c g	g t t t t t g g t t	t t t
t g g g a t a g g g	t a a g t c g g t t	g a a t t t a g a g	g t g
t t t t g t t t t g	t g t t t t t t t a	g g g a t a g g t t	t a t
g t t a t a t a t a	t a t t t a t a t a	t t t t t t g a a a	g t t
a a g g a a g t g g	g t g t g g g g g g	t t a t t t t t g a	t a a
t t a g g g t a t t	a g t t t g t t g g	g t t t a g t t g a	g g g
t t g t t t a g g g	t t g g g a a a g g	a g a g a a a t t t	t t t
t t t t g t g t t t	t c g t a t t t t g	t t g t t t t a g g	g t t
g g a a a a g g g a	a g t g a a g t t a	t g t t g a g a g a	c g t
g a g g g t t t a g	g g t a t t t g g g	a g t c g g t a g g	a t a

10

20

30

40

```

ttcggggtgg gggtagttat ttattaggag tgaggagtcg gcgcgaggag tggaggagg 15780
aaggatggtg gtagttgggg agttagcgtt agt
tatgtagagt tgggtaaaatt ttattatta ttt
ttattattgg aggttttaggt tgttttttgtg gtg
tttttttttt cggggagggt ttgattgggt ttt
cggtatcgggt cgtataggta ttattattgt tat
taagggtgag gggatatgtt gggttttgggg gtg
ttatgttttg atttgagggt tgattgtttt tta
ttagaagatt atttagatgg tgcgggcgta gcg
gtataagttt atttacgtgg ttatcgttta gtt
ggtttttgtag gtgcgtgtag agtaggggttt ggg
gtgtttatttg gttttgtttgg gattattatt ttt
aagggttagg agtcggagta cgggaataatt att
gttaagggttt ttcgtatttct gtttaagtga gtg
ttttttttgt ttgttttaggt cgattttttat ttt
gggattttggt ttttaagtttta ggttttgggttt tta
gtgtttatac gtgtgggttt ttgttaggta tta
ttttgttttt taggagtttg gagtttagtg tag
gggggtggtta gaggggattg ttagtggtcgg gtt
aattgttttg atttgttttt ttgtattcgg ttg
tttgtaattt aagaataaga gggaggagaaa agt
gaagagtaag ggtttttttta agagggaagtg agc
agtttttttg tttgggtgtt tttttttgttt tgt
ttgggtggat ggggtggtcg tagtttttatt ttg
gttttatttt taggttttag ttatttttttt att
agttttgatt ttgtggaagt atttcgcgat gga
ttttattttt ttgtaattta aatggttgta ttt
agtttagtta ggttttaggt agggttaat ttt
tattgtgtgt cgttttttgag tttttttgttt gtt

```

10

20

30

40

taggaigggg aatigtgtgt gttttcgtgc gtgtttcgcg tgaaagtttc gtttttcgtt 17520
agacgggacgt ggggtcgggat ttcgttttcgt acg
ttagttttttt ttttttaaaat ggaggggcgat tat
atgacgggttg acgataagac ggggtatagtg att
attaaaagat tatatacgtt agttttagttt agg
gcgggaaattg agggatagaa aaatttaagta att
atggaatagtg gaggttggga ttcgaatttta ggt
atttttggagt tgtagtttggg gttatttttta ggg
gagtttttaga tttgaatttaa gaagagtagt taa
ttcgggttgcg ttttttttttgg cggggaatagg gat
tagtttttttt tttttattttag gtcgttggtg ttt
ttgggttgacg tgaagagtggt tttgttttttt gtt
gggggtttttt tttttattttga aatatattggtg ttt
tttttaggaag tgttggcggtt tatttttttggga aag
agagggttggg cgtgtatttat ttagttaaatt ttt
atagttttttc gattttttttgg aattttaggag gtt

10

20

<210> 6
 <211> 18404
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <223> bisulfited genomic DNA

10

<400> 6

ttttttttgat	tagttttttta	agtttttagga	ggt	
gggggttttg	taaggatttg	ttgagtaatg	tac	
gttgtttttag	tttttttagg	agtgggcgtt	agtattttt	gagggatgat ttttatcgg
tttattttttt	aggatatattag	tgtttttaaat	aaa	
aaggaagagg	ggataaaaaaa	taaagtatttt	ttt	
taagaggata	agggtagtag	cggttttggat	gag	
ttgaggagtt	tgtttttttg	ttcgttagag	ggg	
gtttttcgggt	gttaattatt	tttttttagtt	tag	
gattaggggt	ttttttgagg	tggttttttagt	tgt	
gggggttagat	agttttgggt	cgaatttttag	ttt	
gtaagtgaatt	aagttatttta	gtttttttttgt	ttt	
tgatagaagt	gttttagattg	aattaacgtg	tgt	
agcgtgtgat	gagttatttgt	gttcgttttta	tcg	
attatttttgt	tatgatacgtt	ttttattttta	aag	
ttatttttttt	acgtgcgagg	cggagttttcg	att	
tttacgcgag	gtacgtacgg	aggtatatatat	agt	
tttattttatt	gggtaagtaa	aggggttttaga	ggc	
tataagaggga	gaagggttgg	tttttgttttgg	ggt	
agagggtgggg	gggatgtagt	tattttaaat	ata	
ttgtgagttt	gtttatcgcg	aaatgttttt	ata	

20

30

40

gggagtgagg	gagtgagagg	gtagttaggaa	ttt
gttgggaagt	atagaatgag	gttgcggtta	ttt
aaggatatag	ggtagggtag	ggaggatatt	tag
aggatagtatt	cgttttatttt	ttttttgaggg	aat
gttggtttttt	tattttttttt	ttttttttttgt	ttt
ttttgtgtttt	gtagtcgggt	gtaggggggggt	aag
tagtatagggg	ggattcggta	ttggtagtttt	ttt
agttacgggtt	tttggtatttag	atttttaagt	ttt
gagtgcggttg	ttgggtatttta	gtagagggttt	ata
aatagaagggg	gtgagaatta	agttttgaatt	tga
gtttttttttta	gaaagtgagg	atcggggttgg	gta
gtagtiagggt	ttattttttt	ggacgagggt	cgggaggttt
ggataggggt	tttttttttt	tggtatgggt	attttttatg
gttggggggat	aggtgatgttt	ttcgtattttc	gat
agggatagtg	ggaagggtggt	ggtttttagta	ggg
tttttttttttt	tttttaggttt	tgttttgtac	gta
tggtttttaaat	gaattgggcg	atgggttacgt	aga
ttatgtttcga	gcgttgcggtt	cgtatttattt	gga
ttagggtttgg	gtgggggggta	gttaaaatttt	agg
tgttttattttt	ttatttttttaa	atttttttaggt	gtt
tgagtatgttc	gatgataaatg	atgggtgttttg	tgc
ggggtgtttat	tagagggttag	ttaaagtttttt	ttc
ttagtttttag	gtatttatagg	agtagttttga	gtt
ggttatcggg	taagtgatga	tggagggttttg	ttt
ggtttttgcg	tgttgacgtt	ggtttttttag	ttg
gcgtcgaattt	tttattttttta	gtgagtggttt	gtt
aatttttatta	ttgtttttgtc	ggtttttttagg	tat
ggagttaatgg	agcgttttttt	agtattgggttt	tat
agggaagga	tagtttttgag	atagtaggggt	gcg
agtagtgtag	taggaagt	tttttttttttt	tta

10

20

30

40

```

t t t t a g g t t t   a t t t t t a g t t   g a g t t t a g t a   a g t
t t a a a t t t a g   a t t g t t a a a a   a t a a t t t t t t   a t a
a a a g g t t a t g   g g g t t t t t a a   g a a g t g t g t g   a a t
a g t t t t c g g g   g a t g g g t t t g   t t t t t g a g a g   a g t
t t t a t c g g g g   g t a t t t t t t a g   a t t t a g t c g a   t t t
g g g g a a g a g g   a g g a a g t t a g   a g g t c g t c g t   a g g
g g a t c g g g g t   a a g g t a g g t t   t t t a t t t t t t   t a t
a g t a a t a g c g   t t t a g t t t t t   g a g g g t t g a c   g g a
t g a g t t t t t a   c g a t a a t t t t   g a g a t t t t t g a   t t t
a a g t t a a g t a   a t t t g t t t a a   g a t t a t a t a g   t t g
t t t t t t a t t t   a t t t a g g t t a   g g t t a g t t t a   g t g
t t t g t a g t t t   t t a t t t t g t   a t t t a t t a g   a g g t t t t g
t a g a t a g a g g   a g t t a t g t g t   a g t t t t a a a g   a a g
g g t t a g g a t g   g g g t a t t g t t   t g g g g a a g t t   g g g
a a g t t t t g c g   g t t a t c g a t g   g a a a a a g a g g   a g g
t t t t g g g a g a   a g a a a t t a a t   a g a a t g g g a t   t t c
g g t t t a t t g t   g g g t g t t t g t   t c g g t t t t g t   t t t
g g t t t c g g g t   t t t t t t t t t g   t a t t t g g t a g   g g t
t t t t g a g g a a   g a t a t t t a t a   g g t a g a g g g t   t a a
t t t a g g g t t t   t g g a g t t a t g   a g g g g a t t t a   g g a
a a t g t g c g a g   t t a a c g t t t a   t a t t g t t t a t   a a t
t t t t a g t t g t   t a t t a t t a t t   a t t a g g a t t a   t t a
t t t t g c g t g a   g g t a g a t t t t   t t t g t c g t t g   g t t
t t t a g g t t t a   t t g g g g a t t t   t a t g g t c g g g   t t a
t c g a a t t a g g   t t t t t t t a a g   t c g a g g a t a t   a g g
t t t t a t t t a t   t t t a t t t t a t   t c g a t t a g a g   a g g
a a t g g g g t a g   g g c g t g g g g g   t t a t t t a t a t   t g t
g t t t g t a t t c   g g t t g t g t t a   t g t t t t t c g t   a g t
g t t g t a t g t t   t a t t t c g g g t   t a g t a t g g g a   c g t

```

10

20

30

40

ggggatgagg	tatagagtag	ggtattgtgg	ttt
tgtttggtat	cggttttaaat	atttggttgg	tgg
atttggggttt	tcgtttttaga	ttaattatta	ata
tcggtatatt	cgttttgttat	ttaataaacg	ttg
tgtaaatatt	atagtttttat	agatataaat	aat
gagttttatag	agatagggtga	tcggggggaga	tat
cgtaaatTTTT	tttttttaggtt	ttggaggga	taa
ttcggttgtg	ttttttaaaaa	cgagggtattt	gtt
ttttttagtag	aaaatgagtt	tgtgtaaaga	aag
ttggggggcgg	tgagtttttta	agagaagcgt	gcg
atgtttaggtt	ttagagtgcg	attttattttt	aaa
tagaaaggaa ggaattigat	ttagtttgig ttacggaigg	gattattita atggtagtat	5400
agaggggtgtt	gtgtagggggg	agttttgtagg	gta
ggtaggggagg	ataggaggggg	tttggaatgta	gat
gatagttttgg	aatTTTgggtt	tggagttttag	aag
gggttacgtt	gtgtagtcga	gatttttgttta	tta
ttttttattttt	tgagatttttt	tttttgtttttg	gta
gattataagt	acggggggcgg	atgcgggggaa	ggg
tttttcgggtg	gttatgacga	tgatacgggtt	gtt
attgatcgtg	gttttttagat	aatTTTgggtt	ggc
gttttagtagt	tggtttttgga	cgtaagcgtg	gag
tggttttagta	taggtttttga	attattgttta	ttt
tttgtttttagt	tgttttttgga	tttaggggttt	ttt
gttttttttttt	ttacgtgggtt	tataattgttg	att
gatttcggggga	tgttatttgtt	tcgttttttgt	agg
gggcggagag	gaggcgagat	ggttttgggtt	agt
tttttttgagt	taatataggtta	tttttggtttt	aga
gtagtaggggg	tggggggatta	tttggtatgga	ggg
agtaggggggt	aatTTTgtttg	ttgggtgggtgg	gga

10

20

30

40

t t g g a g a a g g	g g g a g g t t t t	g t g g g g g g t g	t g g
t g g a g a t t t g	t g a g a t g a g g	g g a g g t a g t t	g g g
g t a g t t t t g g g	t g t t t a t a g g	g g a g a a t g t t	t t t
t c g t t g t t t t	t t t a g a c g t t	g g t g t a a g t t	t t t
t g t g g g t g g g	g a a a t g a g t a	t t a g t t t t t a	a a g
g g g t g g g t t a	g g a g t a g a g g	t g g g t a a g g a	g g g
g t t g t t a t t a	t t t t a g t t g t	t t t a g t t t t g	t c g
t t a g a a g t t a	g t t t t g g t t g	t a t t t t c g g a	t t t
g t t t t t a a t g	t t a g t c g t a t	t t a t t t t c g t	g g t
a g a a g t t a g t	a a t t t a g a g a	t t t t a g a a g t	t t a
g g g a g g t a g t	t g g g t t t a t t	t t t g a t t t g t	c g t
t t a a t t t c g t t t t t t g a a	a t g t t t t a t t a g g t t c g t g a	g g t t g t c g a a g g t t t t a a a	7140
t t a t t t a t t g	t g t a g c g t t t	a t t t t g g g g g	g a g
g t t t t t t t t t	t t g g g t t t t t	a g t t t t g a a t	t t a
a t a t t g t g g t	t a t a g a t a g g	a g t t t t a g t a	g a g
t c g t a t a t g a	t t t t g a t g t g	g g t g a t t t t g	a g c
t t a t t g a g t a	t a g a a a g t a c	g a a g t t t t t a	g g t
g t t t a g g g t t	c g t t t t t g g t	t t g t a g t a g t	g t t
t g g t a t t a t t	t a g a g a a g g t	a g c g t t a g g g	a a g
t t g a g t a g a g	a t a t t t a t a g	a g a g g g g t c g	g a a
t g c g t t a t a t	g t t t t t a a a t	t t a t t a t t t t	a t t
t a g g t a t g a t	a t t a t t t t t a	t t t t a t a g a t	g a g
g g t t t a g g g t	t t t t g a t t g a	t t t t a g g g t a	a g t
g t g t a g t g g c	g c g g t t a t a g	t t t t t t g t a g	t t t
t t t t t a g a g t	t t t a a t c g g g	t t t c g a a t t t	a g a
g t a a t a t t t a	a a a t a t t t g g	a g g a g a g a a g	t t a
t g t g t t t t a g	t a g a g a t t a g	a g g t a a a g a g	a a a
t g g t g g g a g a	t g g a t a t a t a	g a t t t a a g t t	a t a
a g g g a g g c g g	g g a a g a t a a t	t t t a t t g g g g	a a a

10

20

30

40

ttggatgatg	ttattgaagg	ggagttttagg	g t t
tagaaagtag	aattaagttt	tttttttcgaa	g t a
ttttataaag	tttagtttta	taggaaatta	c g t
gggagagagt	gagaagtgag	gttgtagagg	t t t
gtaaatTTTT	taatcgtagg	gatgggggga	a g g
ttttattttt	gttcggagg	gatttttagtc	g a g
gggttatttt	agttttatcgt	ttgggggatag	g t t
gagttttttt	tttttaggttt	taggatgagg	a a g
aggaagcgta	gagttatcga	gggatagatg	t a a
taaggtagag	gatatagtag	aattttgggag	a a a
gggtgatatt	ggttttttggg	acgggttatt	t a a
tttaattttt	cgtttcggta	ttgtttttt	ttttttttga
8880			
atttaggttt	tagttttttt	tgtagggggt	t t t
taggtatttg	ttagtttcgt	tttttttttt	g g t
agtttttagag	ggttttcggtg	ttaaaagttt	t t t
taggggggtag	atacggagtt	agttatgtga	g g t
aggtcgatatt	aggaaaggag	gttttttttagg	t g g
tagtttttaag	ttttaatttag	tgtttttgatt	a a a
tttttagagag	gttgtaagt	ggtaggagta	a g g
tgaatgtagg	gatttacggt	aagggttaagt	c g g
tttttagcgtt	atttcgttgt	ttttttatttt	a a g
gaaaggagtt	atgggtgttat	gaggagtatt	t a g
gggagattat	aggaggagtc	ggggagggtta	t a g
tgttcgggat	agcgtgagat	atttttatata	g g t
tttttggtttg	ggtcggagat	ttattttgatt	t t a
ttgggataag	gtatttaagt	tttttggttaag	t a t
tttttttattg	ttttaatatg	tgttgggggtg	a g g
ttagagggaag	aagagttttt	taataataga	g t t
agtgggttttt	ttgttttttag	tgggatattgg	g t t

10

20

30

40

c g a g g t a g t t	t t t t g t g g t t	t t t t c g g g g t	t a g
a g a t a t t a g g	t t t t a g g a t a	g t a g g g a g g a	g g g
a g g g g a g g g g	a t g g a g g g t a	g g t a g t g t t g	g t t
t a g g g t g g g a	g t c g g t t t a t	t t t t g t t t g g	g a a
t a t t a g t g g g	a t c g g a g t a g	t t t a g c g g g t	a t t
t t t g t a g g a t	a t t t t g t t g t	t g a g t g t a g t	a t t
t t t t t t t t t t	a t a t a g g t t a	t a g a a a t t t t	t t g
g a t t t t t t t a t	t t t g t a g g g t	a t t a g g c g g t	g a g
a g g g t a g g g a	t c g g t t g a g g	t t t t g g g t g g	g g g
a g g g a t g g g g	a g t g t g g g g g	t t g g g g g t a a	g g g
g g g a a t t a g g	a a t g a g t g g t	t t a g g g t t t g	g a t
g g g t t g c g g g	g g g t t a t t t	a t t g a c g g a	g a g c g a g a a g
g g g t t g a g t t	a g g a a g t t a t	t t a t t t t g g t	t t t g c g a t t
t t t a t t g a g g	t t t c g g t g a a	c g t g g a t a t t	t c g
c g t g g g t a t t	a g g t a t t t t t	a t t a t t t g g g	c g g
t t t t g g g g g t	t t t c g g a g a g	g t t t t t t g t t	t a t
t a g g t a g a g a	g t t t a g g g a t	g a a g g g g g c g	t a g
a t t t t c g g t g	g t t t t a g t t t	t a a g t t t t a g	a t g
g g g g a t a g g a	a g a g g c g c g g	t g g g g t t g t t	a t t
a g t a t a g t a a	g g g a a g a g a a	t c g a t t t t t t	g g g
t t t t a t a c g t	g g g a a g a g a a	g t a g a g t a g g	g t g
g t a g t a a g g a	t t g t a a t t a a	a g g t t t a g g a	g t a
a a t t t a g a c g	t a t a t g t g t g	t t t t g t a t a t	t t t
t t g g t t t a c g	g t t t t a c g g t	t t t t g t a t a t	t t t
t g t c g g g c g t	t t a a t a a t a a	a t t t t t t t t t	t t t
t t t t a t g a a a	t g t g t t a t a a	t g a t g g c g g t	g a t
t t t a a g g t a t	t a g g g g t t a t	t g g c g t t t a t	a t g
t a g t t c g g t t	t g t t t g a g t t	t t t t a t t a t t	t t a
a a t a g a g a t t	t t a a a g t t a g	t a t t a g t g a g	t t a
	a a g a g t t t t t	t g t t t t g a a t	t t t
		t t g t t t a a a g	g g g

10

20

30

40

taagatttttg	ttaatgttttg	taagagagaaa	ggg
ttgttttatgt	tattgtggta	gaggggatgga	taa
gggtttttttt	taatttttttgt	tttttaggttt	ttg
ttttattttttt	ggggggttggg	ggataagggtt	ttt
tgatttttaga	ggtttttaaat	attaagggtat	atg
aaatatattaat	atcgtttaaat	taaaaacgagg	aaa
atatatatattg	gtgggttttttt	ttaggggaggg	aaa
gagatatatttg	gttttttttata	tatttttttttg	aat
ataaaaaataaa	atatgtttaat	tgggaataaat	ttt
tttttttgtttt	ttattttggat	gttggttttgta	tgg
cgtagtggtt	tacgttttgta	atttttagtat	ttt
gttaggagat	cgagattatt	ttgggtaata	tggtgaaatt
tttttttttat	taaaaatata	12360	
aaaaaaaaattag	ttggggatatgg	tgggtggggcgt	ttg
taggagagaatt	atttgaatttt	aggaagtcga	ggt
atttttaggttt	ggtaatatag	taagattttta	ttt
ttgtgtgtgttt	aatatatttatg	aatatattatgt	atg
ttttaaggttt	aataaggttta	atttttttttat	gat
aaatatattaat	gttttttttttt	aaaaaaagggtt	ttt
atttggtttttt	ggtttttttttt	tttttatgtggt	ggt
gtatgggtttta	gttttttgattta	tttttttttagt	ttg
gcgggaattttt	tacgttttaac	gttaaggaggt	aag
gcggggatatatt	cgttgggcgtt	ttcgttttatt	tcg
ggtaattgaggt	aagtgttttaa	taataaaggtt	cgt
agtatatagttt	tttgggttttta	tatatatatagtt	ttg
tatagtttata	gtatatatatat	tttatattattt	atg
gtatatattttt	acgtatggaa	tataaaattttg	att
gtatttaaaccg	tttatattgtat	tttgggttttta	aga
ggtgggaagg	aattaatctcg	gtatttagaaa	gaa
tgggaaggaggt	aggaatttttt	ttgaaggggtg	tta

10

20

30

40

```

gtatagttttt  tgttatttttt  tggtaggaaa  ata
gtgtgggggtt  tgtagatttat  ttttatatat  acg
tgatgtagga   attattttttt  ttatttttttt  atg
aattataaga   gtaaatgtttt  gataattttag  aag
gataaaaagta  gagatttaagg  ttagggcgtag  tgg
ggggggtgagg  ttgggtggatt  atttgatatatt  aag
aaatttttgtt  tttataaaaaa  atataaaaatt  tag
tttaggtattt  tggggagattg  agatggggagg  atc
agtgagtttat  ggttggtggtta  ttgtaatttcg  gtt
aaaaataaaaa  atatagtttgg  gcgtagtgat   tta
tcgagggtggg  aggattatttt  gaggtttagga  gtt
ttttattttt  attagtttgt  aattttagtt  ttttaggagg  tggaggttgt  agtgagtcga 14100
gatttatgttta  tcgtatttttta  gtttggggtaa  tag
aattaaaaaat  tatatatagatt  aagatttaatg  gtg
gtaaaataagg  taaaaataatt  tgtagaaaagt  ttt
gttttgataaaa  tgagttttaat  aatattttttt  aaa
agggttttttag  tgtttgtttagt  tttttatatatta  tat
gtaggtgttta  tttattttaat  ttttagaaaata  gaa
gttttaagggtt  ataagtttagt  gagtaggaag   gtg
gttttggtgttt  ttttttttttta  ataattatatat  tgt
tgggtatttgt  tatagttttat  gatggaagggt  gga
tgggttaggg   taaagagggtg  gtacgtatatag  agt
aagttatgtg   gttggaggtaa  agttgtttttg  aga
ttaagggttag  gttgagaaaat  taagggatgaa  att
tttggttagga  aaatgatttat  agacggggatt  agg
cggtaggggtc  gatagtgata   agatgtgtatat  tgg
taagaatttag  taggggttagg  gagttatttta  ttt
gttggttatttt  tttttttttttt  tttttttttttt  ttt
taggttggag   tgtagtgacg   taattttcgggt  tta

```

10

20

30

40

t a a t t t t t t t	g t t t t a g t t t	t t t t a g t a g t	t g g
g t t t a a t t t t	t t t t t t g t a t	t t t t a g t t g a	g a t
t t t t g a a t t t	t t g a t t t c g t	g a t t t a t t t g	t t t
g t t t g a g t t a	t t a t g t t t a g	t c g g t t g t t a	t t t
t t t t t t t t t t	t t t t t t t t t t	t t t t t t t t c g	a t t
t t t t t t t t t t	t t t t t t t t t t	t t t t t t t t t t	t t t
t t t t t t t t t t	t t t t t t t t t t	t t t t t t t t t t	t t t
t t t t t t t g a t	a t a g a a t t t t	g t t t t a t t a t	t t a
t t a t t g t a g c	g t c g a t t t t t	t t g g t t t a g g	t g a
t g a g a t t a t a	g g t g t a t g t t	a t t a t a t t t a	g t t
t c g t a g t a g a	g a t g a g g t t t	t t t t t t a t g t	t g t
a a g t a t t t t t t a t t t t a g	t t t t t a a a t t g t t a g g a t t	a t t a t a t g t t t g g g t t a t t a	15840
t a t t t a g t a t	t t t t t t t t t a a	t a g a g a t g g g	g t t
a t t t t t g a g t	t t a a g t a a t t	t t t t t t t t t t c	g g t
g c g t t a t t t t	a t t t c g t t a g	g t t t t t a t t t	t t a
t g t t g t g g t t	t t g t t t t c g t	t t t a t t a g g g	t t t
t g t t t g t t t t	t a t a t t a g g g	t t t t g t g t t t	a t t
t t t g a t t a t t	a c g t t a t a t g	g t t a g t t t t t	t t t
g t t a t t t t t t	c g g g a a g g t t	t t t t t g a t t t	t t t
g t t a t t t g t t	a g t a t a t g a a	g t t g g t t t a t	t t t
g t t t t a t t t t	g t c g t t t a g g	t t g g t g t g t a	g t g
a t t t t t t a g g	t t t a a g t a a g	t t t t t t a t t t	t a g
t g t g t t a t t a	t a t t t a g t t a	a t t t t t t a t t	t t t
t t a g g t t g g t	t t t a a a t t t t	t g g g t t t a a g	t a a
t g g g a t t a t a	g g t g t g a a t t	a t t a t a t t c g	g t t
t t t g a g a a t t	t g t a a t g a t t	t a a t t t a t t g	g g t
g g a a t g t a a g	t t t c g t g a g a	g t a g a g a t t a	t g t
t a t t t t a a a t	a g t a t t t g g t	g t a t a a t a g a	t g t
g t a g g g g a a a	g g g a a g t g a a	a g g a a a t a a a	g a a

10

20

30

40

```

gtgcggagaa gttggttgga cgtgggaggg ttt
tgagggtgttg tgagttat ttt aggggggatatag gtt
agagggttgga agtagaaaatg taatggagag aat
ttaaagaggg ggtagaggag tatgagtgag tcg
aagttttatag ggatcggaaa taggcgtagg gta
cgtcggagtg agtatttaata aagtttttttt ttt
tcgatgggtgt tcggggatttta tttaacgggat agt
ggcggaggggt cgtaggggggc ggggttgagt tag
ttaggtgagg aagaatcgtt tagtaatttag tta
taatggtatt gtagggataa attttggatt aat
gggggttggtt cgagatcgtt tatagcgggtt agt
agtaggttcg ttigtgtt tagggtcgtt tttttcggg agaggaggag ttatttggag 17580
ttttat ttttg g agtttta agtt gatagagcgg cgg
agtaatttttg gttgagggaag agtaatttaat ggg
agggttttaag gaaaaattttt aatagtttttag ttt
ggttttat tta ttttagggcgt tgaggggatttt att
ggggaggagtg ttttaggtagg gtttaggttttt ggg
gggaggagtt gtttaggggg atgggggttttg gaa
tggggggttg taggttcgta agagattgat att
ttgttttggaa tattaagggtt ttttttttttt ttgg
aggaggcgggt tacgttggtta ttagtagtag gtt
gaaatagcgt ttttagtttg tttagatagggt ttgg
atttgattaa gcgagtaaat ttaaggatat ttg
ttttaaggat tagcgtgttt aagataatttg gag
ttttttattgg ttgggtagtt gtttgtttaa tag
gttttg gatga tgatat ttttg tttatatattgg gta

```

10

20

30

<210> 7
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequ
Synthesized Primer Sequence

10

<400> 7
caggccagtg gagtggcag

<210> 8

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequ
Synthesized Primer Sequence

10

<400> 8

gaggagggtgc agctagtcctg

<210> 9

<211> 126

<212> DNA

<213> Homo sapiens

20

<400> 9

caggccagtg gaggtaggcagc cccagaactg gga
actgggagct gcatctgagg cttagtcctt gag
ctcctc

30

<210> 10

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequ
Synthesized Primer Sequence

<400> 10

caaagcactg gctttggaac c

10

<210> 11

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequ
Synthesized Primer Sequence

20

<400> 11

atcgagtgag tcctgctgga t

30

<210> 12

<211> 227

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

caaagcactg gctttggaac cggactgtct ggg
actgatggac tcaggcaatg ccttaaactc cctgagcctc aggttccttg tctgtaaaat 120

40

gataaagata gcccctgttt catagggctg tgg
aacgccatta tagcacagcg cccggcatcc agc

<210> 13

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> Description of Artificial Sequ
Synthesized Primer Sequence

<400> 13

tgtctggagg ccacgggtcaa tga

20

<210> 14

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> Description of Artificial Sequ
Synthesized Primer Sequence

<400> 14

gtttgtattc ggttgtgtca tgctc

<210> 15

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequ
Synthesized Primer Sequence

10

<400> 15

cccagttcat tgaaaccact

<210> 16

20

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequ
Synthesized Primer Sequence

30

<400> 16

ccttgctctt ctccttgtct

<210> 17

<211> 24

40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequ
Synthesized Primer Sequence

<400> 17

10

gaacggttatt atagtatagc gttc

<210> 18

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> Description of Artificial Sequ
Synthesized Primer Sequence

<400> 18

30

tcacgcatac gaaccctaac g

<210> 19

<211> 159

<212> DNA

<213> Homo sapiens

40

<400> 19

gaacgccatt atagcacagc gcccggcatc cag
cgccatcatt gttatttagcg tggggccaggg agg
ggagagatgc cgtgggaccg tctgggttcg cat

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法で用いられるSHP1遺伝子ゲノムDNAのセンス鎖の塩基配列を示す塩基配列図である。

50

【図 2】図 1 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 3】図 1・図 2 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 4】図 1～図 3 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 5】図 1～図 4 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 6】図 1～図 5 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

10

【図 7】図 1～図 6 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 8】図 1～図 7 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 9】図 1～図 8 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 10】図 1～図 9 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 11】本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法で用いられる S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖の塩基配列を示す塩基配列図である。

20

【図 12】図 11 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 13】図 11・図 12 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 14】図 11～図 13 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 15】図 11～図 14 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 16】図 11～図 15 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

30

【図 17】図 11～図 16 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 18】図 11～図 17 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 19】図 11～図 18 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 20】図 11～図 19 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 21】本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法で用いられる S H P 1 遺伝子の c D N A の塩基配列を示す塩基配列図である。

40

【図 22】本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法で用いられる S H P 1 蛋白質の概略構造を示す模式図である。

【図 23】図 22 に示す S H P 1 蛋白質のアミノ酸配列を示すアミノ酸配列図である。

【図 24】図 1 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A (センス鎖)において、C p G 島でメチル化される C G 配列の部位を示す塩基配列図である。

【図 25】本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法で用いられる重亜硫酸処理にて、シトシンがウラシルに変換される過程を示す化学反応説明図である。

【図 26】本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法で用いられる重亜硫酸処理により、シトシンがウラシルへ変換され、メチル化されたシトシンが変換されない状態を示す模式図である。

50

【図 27】本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法で用いられる S H P 1 遺伝子ゲノム D N A のセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列を示す塩基配列図である。

【図 28】図 27 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 29】図 27・28 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 30】図 27～図 29 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 31】図 27～図 30 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

10

【図 32】図 27～図 31 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 33】図 27～図 32 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 34】図 27～図 33 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 35】図 27～図 34 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 36】図 27～図 35 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

20

【図 37】本発明にかかる造血器腫瘍細胞検出方法で用いられる S H P 1 遺伝子ゲノム D N A のアンチセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列を示す塩基配列図である。

【図 38】図 37 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 39】図 37・図 38 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 40】図 37～図 39 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 41】図 37～図 40 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖 30 に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 42】図 37～図 41 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 43】図 37～図 42 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 44】図 37～図 43 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 45】図 37～図 44 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 46】図 37～図 45 に示す S H P 1 遺伝子のゲノム D N A におけるアンチセンス鎖 40 に対して、重亜硫酸塩処理した後の塩基配列の続きを示す配列図である。

【図 47】(a)～(d)は、それぞれ本発明で用いられるメチル化特異的 P C R のステップを示す模式図である。

【図 48】(a)・(b)は、本発明の実施の一例である実施例 1 において用いられる P C R 用プライマーを示す塩基配列図であり、(c)は、(a)・(b)で用いられる P C R 用プライマーが認識する S H P 1 遺伝子(ゲノム D N A・センス鎖)の塩基配列を示す塩基配列図である。

【図 49】(a)・(b)は、本発明の実施の一例である実施例 2 において用いられる P C R 用プライマーを示す塩基配列図であり、(c)は、(a)・(b)で用いられる P C R 用プライマーが認識する S H P 1 遺伝子(ゲノム D N A・センス鎖)の塩基配列を示す 50

塩基配列図である。

【図 50】 (a) ・ (b) は、本発明の実施の一例である実施例 3 において用いられる R T - P C R 用プライマーを示す塩基配列図である。

【図 51】 (a) ・ (b) は、本発明の実施の一例である実施例 4 において用いられる r e a l t i m e R T - P C R 用プライマーを示す塩基配列図である。

【図 52】 (a) ・ (b) は、本発明の実施の一例である実施例 5 において用いられるメチル化特異的 P C R 用プライマーを示す塩基配列図であり、(c) は、(a) ・ (b) で用いられるメチル化特異的 P C R 用プライマーが認識する S H P 1 遺伝子 (ゲノム D N A ・ センス鎖) の塩基配列を示す塩基配列図である。

【図 53】 (a) は、蛍光 i n s i t u ハイブリダイゼーション (F I S H) を示す 10 図であり、(b) は、A L L 患者における S H P 1 遺伝子の異型接合性喪失の解析結果の一つの典型的なデータを示す図である。

【図 1】

```

caatctatgt gtgcccagtg tagcgaact gtactctac aacacacacg agcagagag 60
ctgctgctgt cctgtttgag aacagagtag cagagcagtg agcagagctg tctgtctag 120
actaaccccc cctccagctg tcttgagaaa cagctctctt agcagagagtg tgcaccttaa 180
cctccctctt gacagctgaa ttagctttga tctgttggtg agctctagag aagacacaga 240
tctgtgagta gacagctgtg cagcagagct gacagctgtg tttgtgagc cctgtacact 300
gacacacact agcctgtgtg ctgtgtgag ctgtgagcag tctgtgagtg tgcaccttaa 360
ttgtgcaact gacagagagtg gacagagctt gctgtctag acactaatag atgacagctg 420
gaattagctt tctgtgagtg ctgtgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 480
tctgtgagtg tctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 540
cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 560
tctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 620
tctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 680
cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 720
gacagagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 780
tctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 840
cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 900
gctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 960
tctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1020
cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1080
cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1140
tctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1200
tctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1260
cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1320
tctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1380
tctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1440
cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1500
gacagagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1560
tctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1620
tctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1680
gacagagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1740
cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1800
tctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1860
gacagagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1920
cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg cctgtgagtg 1980

```

【図 2】

```

ctatgagag gataagtg gacagctgt ttagctgtg agctgagtg tgcagtgag 2040
gctgtgtgaa cctgtgagaa cagctgtgtg agcagagtg agcagagtg tgcagtgag 2100
aagagagagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag tgcagtgag tgcagtgag 2160
ctatgagtg gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag tgcagtgag 2220
gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag tgcagtgag 2280
gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag tgcagtgag 2340
cagctgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 2400
gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 2460
cagctgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 2520
cagctgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 2580
cagctgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 2640
tctgtgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 2700
gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 2760
gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 2820
gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 2880
gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 2940
gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3000
gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3060
gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3120
tgcagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3180
gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3240
cagctgtgtg cagctgtgtg cagctgtgtg cagctgtgtg cagctgtgtg cagctgtgtg 3300
gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3360
cagctgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3420
cagctgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3480
cagctgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3540
cagctgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3600
cagctgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3660
cagctgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3720
gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3780
cagctgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3840
cagctgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3900
cagctgtgtg gacagtgagaa gacagtgagaa gacagtgagaa cagctgtgtg tgcagtgag 3960

```

【圖 3】

tgatgtotta	tttctgttto	tasasttgg	tgastaaao	oatootaata	gasttgoot	4020
gagatattat	agfatattat	asagotgg	agaoatgaa	ootgootao	tacooagott	4080
taootaagt	attgttgaaa	tatttgaa	otootttgto	agagagat	tatgagotto	4140
agagagatto	ogaoatotto	tacuatatt	tttgottgtt	tttgotttco	agootoao	4200
ttotttttto	taootaetta	tattgtatg	ttgttttttt	astttttttt	tttttgaoa	4260
agatttcao	ttttgtttoo	agagtgat	ggagtgatgt	tatgtatgt	ootgaooao	4320
taooatotto	gagatogtgg	gtttaoaga	tatgtatgat	aggttotoao	ttgtttgooo	4380
agagtgtto	gaootatgta	ootaaagto	tootooaoao	tgootooao	asagtgttgo	4440
atttaoatgt	gttaatootot	gogooagat	atttttttt	tttttttaao	aggttotoao	4500
tttgttcooo	agagootgtt	oaagtggao	asoottggt	castgogoo	tgaoaoocoo	4560
agagttaag	agatootao	ototagtao	ootaaagto	ttgttgaoa	aggttggt	4620
asooaoatgt	gotaaatttt	gtatttttg	ttggagagao	gttttotoag	ttgttotoag	4680
attgtotao	attatgttgo	asagtatoo	agootaoag	ootaoagag	ttgttgatt	4740
asagotgtg	gootootgao	otaggttga	tatottatt	tattottgt	ototaoagao	4800
asatttttt	ttotttgat	tatooagat	ttatottgt	asttttagt	ootootgao	4860
ttgttgoao	ootaaagaa	atggggaoa	ttatooao	ootaaagao	ttgttgaag	4920
ootaaagta	tggttgattt	gaaatgato	tgooaaagao	asoottgoo	aggttgaaag	4980
agagtattt	ttattttott	gootaaagt	agagagagt	gtatottgt	ttatgttt	5040
ttotattgo	ttgaootoot	toagagatt	tootootgt	toootagto	aggaagatt	5100
gootaggt	ttttottggt	ttgootggt	astttottoo	ootaaagatt	gtttaaagoo	5160
ttgaagagt	tttttaggo	agagttgao	tgootgttg	gtatgtgao	tgaoootga	5220
oottgottgt	tggttaagtt	tatttttao	gaggttgat	gttgaootao	ootgaattat	5280
ttatgtatg	taoaaagta	ttaggttgt	ttgtttgao	ttgtttgao	oottotoog	5340
ootgaatgao	gootgtgtg	tttttagao	ootaaagto	tattttgao	aggttgattg	5400
gotaggaot	gagagottg	tttttgao	aggttgao	ttggagagot	ogootaggg	5460
totgaootat	ogootagat	ogagootoo	oottgottg	ootgootao	gootgttgg	5520
catgtatgt	ttotgtotot	tgagtgtga	agagagatt	ootgattgt	ootagatoot	5580
aggttggt	ootaootga	aggttgatg	agatgaagao	atgaataao	ootaoagao	5640
agttatooao	aggaootagt	gagagaaag	asootgaao	aatgaagao	aaagaaag	5700
agaaagatt	gagagoott	tttttgag	asootagat	gtttgattt	toaaagatt	5760
aatatagt	tatogaata	asatagoot	ttgttggt	asoottttt	ottottttao	5820
otgaagaga	aatgaotga	tatttataa	ttatgaagao	asootgoot	tootttttt	5880
tttttttt	taaaatagat	ottttaggt	tacagagot	gtatgaatg	gtatatttt	5940

【圖 4】

agctgcgtg	aacotcgtgt	toctggcttc	agctgtttt	ccgtgtttaa	ccotccaggt	8000
agcggagtt	acacggcga	ccacacatg	cagctaat	tttgttat	tttgttag	8060
agcagttto	acagctgtg	ccacagctt	ctgtatctt	tcacgtgt	ctgcgcaga	8120
cttgcttcc	ccacgtgtg	gatttaacg	ctgtacaaa	tgccgcctg	ccattccag	8180
tttatcaac	ccactgaca	cagcatccg	ctagacaga	agacgtctc	ctgtaccct	8240
aagcttccc	agcaattgt	ccacgtatg	ctatttatt	ttataagat	actcgtccc	8300
ccctctata	ctctcaaaa	ggatgtaga	gaacccgtg	tctcccccg	ccctgtctc	8360
ccacaccca	gittcttcc	ctagtcgac	ccacacat	gtttctata	tgattctcc	8420
cttagctgt	ttttctctt	tttgttttt	cgatttat	gtttttatt	agattatcc	8480
gttagcgac	tcatactct	tgattttat	gcctctacg	ctccacacg	cttagacaa	8540
tcagccttg	tgagccctt	gtccccagg	ccacacaga	tagccctct	actgtatgt	8600
cttagccga	ccacagctg	agacacaca	ctagacaga	ccacacttg	ccacgtctg	8660
tcagctatg	tttgtctct	ccctccctc	agtgacag	ccacacgtg	tttgttgtt	8720
agagcagga	ccactctct	cttagacga	ttgcacat	cttaactat	gtctctctt	8780
tcctccctg	gcctctctt	ccacagcgt	cttaactct	tgcttttgc	agcctcagg	8840
gctgttgtt	agctcttaa	agcactgtt	ttgcacag	actgtctgt	ttgtactct	8900
agccctcag	ctctactct	gtgtccctc	gcactctct	taactctct	agcctctct	8960
ttctcttgt	gttatctat	ccacagatg	ctcttttat	agctgtctg	tgagaccca	9020
ctccacacg	gctgtctga	ccacttatg	ccacagccc	gcattctcg	aggaactct	9080
ccgtgcagt	ttctccccc	ctattctta	ttgcctgt	ccagctggc	ctgtctaaa	9140
gcagctgtg	agacacagc	agctccctg	gcacgtctg	actgtctgt	ctgtcagat	9200
tatctgcag	tgagctgtg	agacaccca	tgctctctt	ctgtcttat	gtgtctctt	9260
gcagctcag	ctctctctg	ctcttgtgt	gcacagctt	agcagcttg	ccctctctcc	9320
cccccctct	cccccctct	ctgtctctct	tcctctctt	ccctctctc	ccagcagct	9380
agctgcttc	cccccaggg	ctctctctg	ctctctctt	gcctccctg	ccagctcct	9440
cagcaactg	gattggcag	ccgcacagt	gcacacagg	ggctgttgc	gcggccggc	9500
actgcagct	gcattctgag	ctatttcct	gactcttct	ctctccccc	ctatgtctgc	9560
ctctctctt	ctctccccc	ctttctctg	gcacacccc	agactgtct	agctctctt	9620
tgcccccct	actgacagg	agcagcagt	gcctgtctg	ccagtcagc	ctctctctct	9680
ccactccct	ccacccagc	tgcttttcag	gacacactg	ctgtctgat	gcagacagcc	9740
tgctcagag	ctcagctgt	ccagctgat	ctctctctg	gcctctctg	aaagacacg	9800
ctgactctt	ctctctctg	actgacagc	gcctccccc	cccccagcc	tttgtccac	9860
ttctctctt	ctctctctg	ctctctctc	ctctctctt	ctctctctc	actctctct	9920

【图 5】

occcgttgtt	tcctcttgcc	ccacccccc	ccctcccat	ccctgttgtt	gcccccct	7980
gccccttgtt	gccccccc	agccctcc	ccgtctcc	ccctccccc	ccctctctt	8000
ccacccctgt	cccccctcc	tcctccct	ccagctcc	ccctccct	ccctctctt	8140
GATCGAGAG	TCCAGGGAT	TCTATGAT	GATGAGGG	GAGAGATTG	CCAGCTGAC	8160
AGAGCTGGT	AGTATGACA	CTCAGCACA	GGGTTCTCT	CCAGACCGG	AGCGACCAT	8280
GATCAGCTT	AGTACCGG	TGAGTGGT	CCATCCGAT	ATGAGAGT	gagggctcc	8280
cccccctcc	ctccccc	agggctgag	ccgtccccc	ccctccccc	caggcgccc	8340
gagagagct	ccagccccc	tgctccct	ccctccccc	ccctccccc	ccacggctg	8400
ccctccctt	ccctccccc	ctgctctt	gggctcc	ctctccccc	ctagccccc	8460
acccccccc	cccccctcc	agggccccc	agagccccc	ccctccccc	ccggccccc	8520
ctccctctt	cccccctg	cccccctg	cccccctg	ccctccctt	ccagccctt	8580
tcctccctt	ccctctctt	gttccccc	tcctctctt	ctgctccct	ccctccccc	8640
ctccctctt	ccctccccc	agccctctt	agccctgag	ccctccccc	ctgctccct	8700
ctgctccct	ctgctccccc	agccctctt	ctgctccct	cccccctcc	ctgctccct	8760
ctgctctt	gttccccc	agccctctt	cccccctcc	cccccctcc	agccctctt	8820
gttccctt	ctctccctt	agctctcc	ccgtccccc	cccccctt	ccctccccc	8880
ccctctctt	ccctccccc	cccccctcc	tcctccccc	cccccctcc	agctccccc	8940
agctccccc	tcctccccc	ccctccccc	ccctccccc	tcctccccc	ccctccccc	9000
tcctccccc	ccctccccc	agggccccc	gagccctct	agggctctt	ccctccccc	9060
ccctccccc	cccccctcc	ccctccccc	gagccctcc	tcctccccc	gttccctt	9120
agctccccc	ccctccccc	tcctccccc	ccctccccc	ccctccccc	ccctccccc	9180
gagccctct	tcctccccc	gagccctct	gagccctct	gttccctt	gttccctt	9240
agccctctt	cccccctcc	agccctctt	tcctccccc	ccctccccc	agccctctt	9300
tcctccccc	agccctctt	agctccccc	gttccccc	ccctccccc	ccctccccc	9360
cccccctcc	agccctctt	tcctccccc	gagccctcc	agctccccc	ccctccccc	9420
ccctccccc	agggccccc	agggccccc	ccctccccc	ccctccccc	gagccccc	9480
gagccccc	agggccccc	tcctccccc	agctccccc	tcctccccc	agggccccc	9540
agggccccc	agggccccc	ccctccccc	agggccccc	tcctccccc	gagccccc	9600
tcctccccc	tcctccccc	ccctccccc	agccctctt	cccccctcc	ctgctccct	9660
gttccctt	cttccccc	agctccccc	tcctccccc	cttccccc	ccctccccc	9720
tcctccccc	tcctccccc	tcctccccc	tcctccccc	tcctccccc	agctccccc	9780
tcctccccc	ccctccccc	ccctccccc	gagccccc	cccccctcc	cccccctcc	9840
ccctccccc	tcctccccc	cccccctcc	tcctccccc	gagccccc	tcctccccc	9900

【图 6】

[illegible]

【图 7】

[illegible]

【图 8】

GTCCGCGCTG	BACAAATgta	gtgcgccccg	cgcccttgcc	cccttcgggg	gtccctccct	13929
ggcctttgt	tcctctctgt	tcagctggg	tgagctagt	gagcttgat	gagagaggg	13930
ggcgcctga	ccctctgtct	tcagctggg	GACAACTGAT	TGGCAGATAC	TGGCATATCC	14040
ATGATGACG	GTCCGCGCGC	CATGCGCGTC	CGAGTACGAC	TGGCGGTGTG	GTCAATGTTT	14100
TGACACAGAT	CACCCACGAC	GACGAAATGT	TGGCTACACC	AGGCGCCATG	ATGCATGCAT	14160
GCAGTggg	gtgatctctc	tgctgtgctg	agtgacagct	gagagctctg	tcctgtctg	14220
tgccctgtga	tggttatgac	actatctgac	tcagctggg	actcttggtc	ctccctgtga	14280
cccccgtgt	ccctctgtct	ccctctgtgc	tcgcacccc	tgagtgatga	ggtgctggaa	14340
ccagctccgc	tttgctgctt	tgctgtggg	tcctctcttc	agccctgtct	ccgagctggc	14400
ccctccctgc	aacctctcca	actatggg	ggagccggc	ggccactgtc	ctgcctggc	14460
ccagctagct	agggcgagc	ccggcgaggc	ccccacgtg	gcccctgtgt	ccgctgtgt	14520
ccctctctct	cgagctctcc	tcctcttgct	tcctctcttc	agagctctct	atggagcgt	14580
tcctccctct	tcctctctct	ttctctctct	tcctccggc	tgagctgct	ctctccctgt	14640
ctccctctct	tcagctgtct	ccagctgct	gccccctct	ggcccccggc	ccctctgtgt	14700
ctgctgtgt	gctctcttg	gctgcacct	ccccctctg	tcctctcttc	ccgctcttg	14760
tgctctggag	ccctctctg	ggctctggg	gtgggggtg	ccagctggg	ccggctgttc	14820
ccagctggc	ccagctggc	gcccctctg	ccctctctg	ccagctctg	gtgcagctc	14880
ctccctctct	ccagctgtgt	ctctctggg	actatctct	actctctct	ctctctggc	14940
ctctctctg	actctctg	ctctctggg	ctctctggg	ctctctctg	ctctctctg	15000
gtgtctgg	tcctctggc	ctctctggg	ctctctctg	tcctctctg	tcctctctg	15060
tcagctggg	actagctgg	tgagctctg	ccctctccg	gtccctctc	actccctctg	15120
tcctcccg	gctctctgg	ccctctgtg	tcctctctt	ccccccgct	ctctgttct	15180
tgagctggc	ccagctctg	gagctctgg	gtgcctctc	tgagctctg	ggagctggc	15240
ctctctctg	tcctctctc	ctctctggg	ccccccggg	gagctctct	ctgtctctc	15300
gcctctctc	tcctctctc	ctctctggg	gccccctgt	ctctctctg	agctctggc	15360
agagctgtg	gtctctggg	ctctcttg	ccctctgtg	tgagctctg	ccagctggc	15420
tcctctctg	gctctctg	ccctctgtg	ggctctctc	ggctctctc	tgagctctg	15480
tgagctggc	ctctctggg	agagctctg	ctctctctc	tcctctctc	actccctctg	15540
ccctctctc	ccagctctc	ctctctggg	ctctctctc	ccccctctc	agctctggg	15600
ggagctggg	agtgagctc	tcctctggg	ccctctctc	ctctctctc	ggagctggg	15660
ggagctggg	gctctctg	agctctggg	agctctgtg	gctctctgg	tcagctgtc	15720
tcctctctg	ggagctctc	tcctctggg	tgagctgtg	ggagctggg	tgagctggg	15780
agagctgtg	ccctctctg	agagctgtg	agagctggg	agagctggg	ggagctgtc	15840

【図 9】

atgagagag	tggagagag	tactatctat	cttgcgcgt	ggcccttgg	acatttcctt	15900
cacttcctgt	aggttaggg	tgtctctgt	ctgtctggg	ctggagctgt	acgtctggg	15960
ccccctctt	ctgtctggg	ctgtctggg	ctgtctggg	ccccctgtt	tcctccgtgt	16020
CGCAGTCGCG	CGCAGTCGCA	CGATCATTT	CATGACATG	CTCATGAGCA	ACATCTCCAC	16080
CAGAGTGTG	CGAGAGCTG	gagtttggg	ctgtctggg	ctggccctgt	cggtctggg	16140
ctgtctgtg	cccttgaggt	tgcctggccc	ccccccggg	CTGAGCTTG	CAATTACAT	16200
CGAGAAAGCG	ATCGAGTGT	TGGGGGGGGA	CTGTCTGGAA	ATGTGTGAGA	CGAGCTGGGA	16260
GTACAAATG	ATCATAGTG	CGATGGCGGA	GTTCATTTGA	AGCAATACGA	AGAACTGTGA	16320
GGTCTGCGAG	ctgtctggg	agagccctgt	gagtttggg	cccttcctgt	tgcagctgt	16380
gttccctctgt	gagctctgt	ccgcctccccc	ttccctctgt	cccttcctgg	ccaggttccag	16440
AAAGGCGGAG	AATGCGAGTA	CGGAAAGATC	ACGTATCCCG	CAGCGATGAA	GAATGCCCAT	16500
CGCAAGTCGT	CGCGAGCTG	GTCCAGTGA	gttgcctgt	ctgtccctgt	ccggtctccc	16560
cccccttgt	ctgtccctgt	cgatctctga	ttttctggg	ggcagactgt	tgcagctgt	16620
ggccttcgt	ttccctctgt	ggcttctgt	cccttcctgt	ttttctctgt	ttttctctgt	16680
gttccctccgc	gttgcctgt	ctgtctggg	ccgcctggg	cccttcctgt	gagacttgg	16740
ctctctctct	tgggtgtg	gagctctgt	cagggccct	ggttcctgt	ccgttggag	16800
gttcttgcga	cccttcctgt	ccagctggg	gttccctgt	gtgtctctgt	gagctccgc	16860
acgtctgtgt	acttgcctcc	ctgtccctgt	agcagAAC	AGGAGAGTGT	TBTATGAAA	16920
CTGTGCATCT	AAAGAACAG	GGGAGAGAG	ATTGAAAGG	CAGCGCTGAG	CAGAGAGGA	16980
GAAGAGCAAG	GGTTCCATGA	AGAGGAAGTG	AGCGTCTGTG	TCCTCAGGTG	GCATCATGGA	17040
agctcttgt	ctgtctgtg	ctctctggg	ctgtctgtg	ctgtctgtg	actgcctgt	17100
ctgtctgtg	ctgtctggg	ccagctctgt	ctgtctgtg	ccagctgtgt	ccagctctgt	17160
gttccctctgt	ccagctgtg	ctctctctgt	ccctctctgt	tcctctctgt	tgcagCTG	17220
AGCCTGAGTG	CTGTGAGAG	ATTGCGAGT	GGAGAGCTG	AGAGCGTGAA	CTGAGAGTG	17280
CGCATTCTGT	TTGTAATTTA	AATGGCTGCA	TGCCCCCGAC	CTCTCCTGTA	CGCTGTATAT	17340
AGGAGCGAGCA	CGCGCGAGCG	AGGCGCGAGC	TTCTCTGTTT	TGTAATAATA	CGCTGTGAGT	17400
CACTgtgtgt	ccctctctgt	ccctctctgt	ccctctctgt	ttttctctgt	ggagctctgt	17460
ccagctctgt	actgtctgt	ccctctctgt	ctgtctctgt	tgcagctgt	gcttctctgt	17520
agcagctgt	gagctctgt	ctgtctctgt	agctctctgt	gttgcctgt	gttgcctgt	17580
ccctctctgt	ttttctctgt	ggagctctgt	ccctctctgt	ttttctctgt	ggagctctgt	17640
ctgtctctgt	ccctctctgt	agcagctgt	ccctctctgt	ccctctctgt	ccctctctgt	17700
ccctctctgt	ccctctctgt	gcttctctgt	gcttctctgt	gcttctctgt	ttttctctgt	17760
ggagctctgt	ggagctctgt	ccctctctgt	ctgtctctgt	ttttctctgt	ccctctctgt	17820

【图 10】

atgaaaggt	gagotaga	ttagaaga	ggtgtgta	cccaagagaa	aaacatcatt	17885
aaactagct	ttagctgtg	gaaacatga	ttgagcagc	gatacaacta	ccatgatctt	17940
gtatgaca	tgtatgaa	gaaacatga	ttgagcagc	gatacaacta	ccatgatctt	18000
ccacagctg	tcacatctg	aggaagaaa	aacatctga	ttagagaaa	gtgtacagaa	18060
gacatctaa	aatatctaa	ggagctgtg	ctcatctat	atttagaaa	gttttagaa	18120
atgtgtgc	tgaatagtg	ttgtttttt	gtccatctt	aatcaaaaa	tgtaagagt	18180
gaattcttt	atttataga	aaacatgta	tgtctggaa	taaaagcgt	aggaatctg	18240
aatagaaa	tgttagaaa	aatctctgt	aaatgagaa	aaagcaaaa	ccaaagaaa	18300
agagctgtg	gtatctaac	tgaacaaa	cttagaaa	ccagcgtta	aaagctaaa	18360
aaatctaaa	gaatctgtg	aaatctaaa	aatctctgt	aaagctaaa	aaagctaaa	18420

【圖 1 1】

totoctogao	oagotoota	agtooaaga	agtoogaaa	otagatagao	otagagaoao	60
agagotogot	taagattatg	otagatagat	oagooagao	otagatagot	agagaoagt	120
agotagotag	ottioogao	agtagagao	oagootatg	agagtagao	toagooagot	180
ttatagtoao	agagaoagao	ttatagat	agagagao	ooagootatg	gaoagtagao	240
agagagagag	agagaoagao	oagagagao	ttioagtag	oagootatg	agootatgao	300
oagagagat	agagagagao	agagotagat	agagagagao	agagagagot	ooagagagot	360
otagagagao	tatoototgt	ooagagagao	agagagagao	agagagagot	toagotagot	420
tootagotag	agatootatg	ottatagat	agagtagao	oagagagao	agagagagot	480
agtagagao	ooagotagag	tagooagao	tagaoagao	agagtagao	tagagagot	540
agagtagao	agootagat	agatootag	ootagagot	oagagagot	tagagagot	600
gaoagtagao	agatagat	ttatagot	ooagagot	ooagagot	agagtagao	660
tagagagag	gaoagtagao	agatootag	tagagagot	tagagagot	gaoagtagao	720
agagtagat	agagotagot	gaoagtagao	toagagagot	toagagagot	ttatagaoao	780
oagagagot	tatagatagao	otatagat	agagagagot	tagagagot	toagagagot	840
toagagagot	agtagagag	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	900
toagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	960
oagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1020
-YACAGAGAG	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1080
AGAGAGAGAG	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1140
TTATAGAGOT	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1200
gagagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1260
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1320
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1380
AGAGAGAGAG	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1440
gagagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1500
gagagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1560
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1620
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1680
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1740
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1800
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1860
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1920
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	1980
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2040
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2100
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2160
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2220
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2280
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2340
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2400
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2460
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2520
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2580
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2640
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2700
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2760
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2820
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2880
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	2940
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	3000
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	3060
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	3120
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	3180
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	3240
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	3300
agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	agagagagot	336

【圖 12】

[illegible]

【例 13】

agtoocoggo	tootoototg	tuttigzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	oogzoozoo	4020
otogagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	oogzoozoo	gzttagzoo	oogzoozoo	4080
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4140
gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4200
tootoototg	oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4260
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4320
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4380
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4440
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4500
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4560
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4620
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4680
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4740
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4800
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4860
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4920
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	4980
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5040
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5100
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5160
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5220
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5280
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5340
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5400
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5460
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5520
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5580
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5640
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5700
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5760
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5820
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5880
oogzoozoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	gzttagzoo	5940

【圖 14】

tgagccagca	agagccctga	acacatgcgc	ccctcccccac	tgagagagca	agagctggcc	6000
tttgccagcc	tgctctgtga	tctaggttgc	cccccacccac	gagcgagcttc	acgagggccgc	6100
tgctctctcc	acagctagcc	ccacatctgc	ccctttgatgt	agtttgacat	gatgatagcc	6200
gaccccgagg	tgtagctatgc	ccctccctggc	agagtagctc	tgactctgct	agagtagagt	6300
gagccagagc	gagctagctg	gtgtatgtgt	agccacagac	tcacccaccc	tgtagctagc	6400
ccctctctgc	taagccggcc	tctctgtctc	agagccatgt	agcgtttgac	gagacgtgtg	6500
gagccagagc	tgagctgtgc	tctctgtgtc	gagagctgtg	gagcttcacg	gagctgtgtg	6600
agccagccgc	acacatctgt	ctgtctgtgc	agagcagctt	ctagagagag	tgagagctgt	6700
tttagagagc	tgagctatgt	ctgtctgtgt	tgagagagag	ccctctctgt	gagtagagag	6800
tgagacccgc	tgagctagag	tgagccacgt	ctgtctgtgt	cgatctctgt	agtagagagc	6900
gagagcgtgc	tgctctagag	gagagagctt	ctgtctagccg	ttctctccct	tgctctctgt	7000
ccctgctgct	tgccagagct	gtctctagat	ctgtctctgc	tgcctgtctg	agctctgtgc	7100
tgagctgtgc	gagctgtgag	tgagcttcac	agagagctct	ccctctgtgc	agctctgtgc	7200
gagctgtgag	agccagagag	tgagagagag	gagagagag	tcagctgtgc	cccccagagc	7300
gctgcacac	ccctctgtgc	cccccagagc	ccctcccccac	ccctctgagc	caagctgtgc	7400
ccagagagcc	cccttgctgc	tatctctgca	ctctctcttc	ttgtctcagt	ccagagctgc	7500
gtttctcaat	tgccagagct	tgccagctgc	ggcctatgac	ggctctgtgc	gagagagagc	7600
agagctgagc	taagccagag	tgccagagag	tcacatctgt	agccagagct	agagagagag	7700
gagccagagc	tgagccagag	ctgtctgctg	ccagagtaga	caagagccgc	tgagccctgt	7800
tgatctccgc	ttgtcttgaa	atgtctccgc	aggtctgagc	ggatctgagc	ggatctgaaa	7900
ccagccagct	tgtagagctc	acccctgtgc	gagccagctt	agagcccttc	gagagctgc	8000
gtctctctgc	ctgtctccac	agcctgtgc	tgagagagag	gagagccac	ctgtccagac	...
acagctgtgc	ctgtctgtgc	agccagagag	gagagctgc	ggcctgtgc	gtgcttgc	7280
tgccagctgc	ctgtctgtgc	gtgcttgc	ggcctgtgc	ctgtctgtgc	gtgcttgc	7380
tgctgtgaca	ccagagagca	gaagctgtgc	ggcctgtgc	gtgctgtgc	ccagagagca	7440
gtccagagct	ccagagctgc	gtctctgtgc	ggcctgtgc	ccagagagca	ccagagctgc	7500
tgctgtgaca	tgagagagag	agcctgtgc	agagagag	ccagagagag	agagagagag	7560
ctgtgtgagc	ctgtctgtgc	agagagagag	ggagagagag	ccagagagag	tgagagagag	7620
tgagagagag	ccagagagag	ccagagagag	ctgtgtgtgc	ccagagagag	tgagagagag	7680
tgagagagag	ccagagagag	ccagagagag	ctgtgtgtgc	ccagagagag	tgagagagag	7740
tgagagagag	ccagagagag	ccagagagag	ctgtgtgtgc	ccagagagag	tgagagagag	7800
tgagagagag	ccagagagag	ccagagagag	ctgtgtgtgc	ccagagagag	tgagagagag	7860
tgagagagag	ccagagagag	ccagagagag	ctgtgtgtgc	ccagagagag	tgagagagag	7920

【 図 1 9 】

tmoocagtat ttttttttt taguattggt gtatgtatat gtgocaggt atgttttaa 15900
 atootageto taguaguoat ttoocootto gacotoccaa atgtotgga tsoagagot 15960
 gogooootto atutogtong gtttttoott toacatoot agtotoocaa tigtatoo 16020
 tigtatgao atgtotgao toacatagga toototgga oggocoot gtotttttt 16080
 tttttttttoo caacttaggt atgtttgato acatootoot atgococaggt atgtotgnot 16140
 atgtatnot agtotoaggt gacatootoot atgtotooto atoggggt atgtotnot 16200
 gtacatoot oggagagoo tootgtatoo atogagtag taatgtocoo tgoococoo 16260
 gtacatoot agtatagga atgtatnot ttttttttt ttttttttt ttgagocag 16320
 gtotacatoot gtogococag atgtatgga gtgtatnot atgtotgga tgoocotgt 16380
 acotococag atgtococag atgtotacat tagotototo atgtotgga acacagag 16440
 tigtococoo acococag atgtttttt ttttttttt acaggtoto atgtttttt 16500
 acaggtatgt atgtococoo tggotocag acatoototo atgtotgnot acocaggt 16560
 tggatocoo atgtatgga acatococag gacaggtgt atgtttttt atgtatnot 16620
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 16680
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 16740
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 16800
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 16860
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 16920
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 16980
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17040
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17100
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17160
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17220
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17280
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17340
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17400
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17460
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17520
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17580
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17640
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17700
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17760
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 17820

【 図 2 0 】

tmoocagtat ttttttttt taguattggt gtatgtatat gtgocaggt atgttttaa 17880
 atootageto taguaguoat ttoocootto gacotoccaa atgtotgga tsoagagot 17940
 gogooootto atutogtong gtttttoott toacatoot agtotoocaa tigtatoo 18000
 tigtatgao atgtotgao toacatagga toototgga oggocoot gtotttttt 18060
 tttttttttoo caacttaggt atgtttgato acatootoot atgococaggt atgtotgnot 18120
 atgtatnot agtotoaggt gacatootoot atgtotooto atoggggt atgtotnot 18180
 gtacatoot oggagagoo tootgtatoo atogagtag taatgtocoo tgoococoo 18240
 gtacatoot agtatagga atgtatnot ttttttttt ttttttttt ttgagocag 18300
 gtotacatoot gtogococag atgtatgga gtgtatnot atgtotgga tgoocotgt 18360
 acotococag atgtococag atgtotacat tagotototo atgtotgga acacagag 18420
 tigtococoo acococag atgtttttt ttttttttt acaggtoto atgtttttt 18480
 acaggtatgt atgtococoo tggotocag acatoototo atgtotgnot acocaggt 18540
 tggatocoo atgtatgga acatococag gacaggtgt atgtttttt atgtatnot 18600
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 18660
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 18720
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 18780
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 18840
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 18900
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 18960
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19020
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19080
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19140
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19200
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19260
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19320
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19380
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19440
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19500
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19560
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19620
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19680
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19740
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19800
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19860
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19920
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 19980
 atgtatgga atgtatgga acatgtttt atgtttttt atgtttttt atgtttttt 20040

【 図 2 1 】

ATGCTGTCCT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 60
 AAGGCGGAG GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 120
 TTCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 180
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 240
 TCACGAGAG GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 300
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 360
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 420
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 480
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 540
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 600
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 660
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 720
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 780
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 840
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 900
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 960
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1020
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1080
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1140
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1200
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1260
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1320
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1380
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1440
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1500
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1560
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1620
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1680
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1740
 GTGCTGCTGT GTGCTGCTGT TCACGAGAG CTACGAGAG TGATGAGAG GACCTGCTGT 1794

【 図 2 3 】

MVRWFHRLDLSGLDAETLLKGRGVHGSFLARPBRKNQGDLSVRVGDQVTHIRIQNSG
 DFYDLYGGEKFAITLVEYYTQQQGLDQRDGTIHLKYPLNCSPTSERWYHGHMSG
 GQAEITLLQAKGEFVFLVRESLBPQDFVLSVSDQPKAGQSPFLRVTHIKVMCEGGRY
 TVGGLETDFSLDLVEHFVKTGIEEASGAFVYLRQPYATRVNAADENRVLELNKKQDESE
 DTAKAGFWEFEESLQKQEVKNLHQRLEGQRPNKGNRYNKLFFDHSRVLQGRDSNI
 PGSDYINAYIKQLLGPDENAKTYIASQGLEATVDFWQMAWQENSRVIMTTREVE
 KGRNKCVPYWEVGMQRAYGPYSVTNCEHDDTEYKRLTLQVSPLDNGDLIREWHYQ
 YLSWPDHGVPEPGGVLSFLDQINQRQESLPHAGPIVHCBSAGIRGTIIVDMLENIST
 KGLDCCDIDKTIQMVRACRSGMVQTEAQYFYVIAQFIETTKKKLEVLQSQKQDESEY
 GNITYPAMKQAHAKASRTSSKHKEDVYENLHTKNKREKVKKQRSADKESKSGSLRK

【 図 2 2 】

N				C			
SH2	SH2		PITPase Domain				C-terminal

【圖 30】

4020
4060
4140
4200
4260
4320
4380
4440
4500
4560
4620
4680
4740
4800
4880
4920
4980
5040
5100
5160
5220
5280
5340
5400
5480
5520
5580
5640
5700
5760
5820
5880
5940

[illegible]

6000
6060
6120
6180
6240
6300
6360
6420
6480
6540
6600
6660
6720
6780
6840
6900
6960
7020
7080
7140
7200
7260
7320
7380
7440
7500
7560
7620
7680
7740
7800
7860
7920

【圖 3 2】

7980
8040
8100
8160
8220
8280
8340
8400
8460
8520
8580
8640
8700
8760
8820
8880
8940
9000
9060
9120
9180
9240
9300
9360
9420
9480
9540
9600
9660
9720
9780
9840
9900

[illegible]

1002
1008
1014
1020
1026
1032
1038
1044
1050
1056
1062
1068
1074
1080
1086
1092
1098
1104
1110
1116
1122
1128
1134
1140
1146
1152
1158
1164
1170
1176
1182
1188

【图 3 3】

agctgttttg	ttttgttgtt	tttttttttt	tttttaggtt	tttttttttt	agtttagggg	11940
aggttttttt	tttttttttt	tttttaggtt	tttttttttt	tttttaggtt	tttttttttt	12000
tttttaggtt	tttttttttt	tttttaggtt	tttttaggtt	tttttttttt	tttttttttt	12080
attttttttt	tttttttttt	tttttaggtt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	12120
tttttaggtt	tttttaggtt	agtttaggtt	tttttaggtt	agtttaggtt	tttttaggtt	12160
gtttgttttt	agtttaggtt	gttttaggtt	tttttttttt	gttttaggtt	agtttaggtt	12240
AGTGGAGTGA	TTTTGTAGGA	ACGGAGTATG	AATATTGTGG	AGTTGGAGTA	TATTAATGTT	12300
AATATATATG	AGTTAGTATG	gttttaggtt	gttttaggtt	agtttaggtt	tttttaggtt	12360
ttttgttgtt	agtttaggtt	tttttaggtt	gttttaggtt	tttttaggtt	agtttaggtt	12420
tttttaggtt	agtttaggtt	gttttaggtt	tttttaggtt	gttttaggtt	tttttaggtt	12480
agtttaggtt	tttttaggtt	gttttaggtt	ATTAATGTT	AGTTTGTAGT	GAAGAGAGTA	12540
AGATTATATG	CAATTAGTGA	GGTTGTGTGG	AGGTTAGAGT	TAAATGATT	TGCTAGATGG	12600
AGCTGTAGGA	GAATGAGTGT	TATGAGTATG	GAATGAGTGA	AGAGGTAGGA	AAAGGTAGGG	12660
tttttaggtt	tttttttttt	gttttaggtt	tttttaggtt	gttttaggtt	tttttaggtt	12720
agtttaggtt	agtttaggtt	agtttaggtt	tttttaggtt	agtttaggtt	tttttaggtt	12780
agtttaggtt	tttttaggtt	agtttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	12840
tttttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	gttttaggtt	gttttaggtt	tttttttttt	12900
tttttaggtt	tttttaggtt	agtttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	12960
agtttaggtt	tttttaggtt	agtttaggtt	atttttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	13020
tttttttttt	gttttaggtt	gttttaggtt	tttttttttt	tttttaggtt	tttttaggtt	13080
tttttaggtt	tttttaggtt	agtttaggtt	tttttaggtt	gttttaggtt	tttttaggtt	13140
tttttaggtt	gttttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	agtttaggtt	13200
agtttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	agtttaggtt	tttttaggtt	13260
tttttttttt	tttttaggtt	tttttaggtt	agtttaggtt	agtttaggtt	tttttaggtt	13320
agtttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	agtttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	13380
tttttaggtt	agtttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	gttttaggtt	13440
gttttaggtt	gttttaggtt	gttttaggtt	gttttaggtt	gttttaggtt	agtttaggtt	13500
gttttaggtt	gttttaggtt	gttttaggtt	agtttaggtt	gttttaggtt	gttttaggtt	13560
atttttaggtt	tttttaggtt	gttttaggtt	agtttaggtt	agtttaggtt	tttttaggtt	13620
agtttaggtt	tttttaggtt	agtttaggtt	gttttaggtt	gttttaggtt	gttttaggtt	13680
agtttaggtt	gttttaggtt	tttttaggtt	gttttaggtt	tttttaggtt	tttttaggtt	13740
tttttaggtt	gttttaggtt	ATTTGTGTGG	GTGGGTAGTA	TAGCTGATTT	TGTGGGTATG	13800
TTTTGTGATG	TTGTTGTAGG	ATGATGATAT	AATGATGAT	AATTTGTTTA	TTATATAGGT	13860

【图 3 4】

TITTTTGGTG	GATAATGcga	gtgtgtttta	cgtttttttt	tatttttggg	gttttttttt	13620
gggttttttt	tttttttttt	ttgttttttt	ttgttttttt	tggttttttt	tggttttttt	13680
aggtttttga	tttttttttt	ttgttttttt	ttgttttttt	TGCGAGATT	TGGTATTATT	14040
AGTATTGAG	TGTTGTTGAT	TATGCGTATT	TTAGTGTGTT	TGGGCGTATT	TTTATGTTAT	14100
TGATTATGAT	TAAATAGCGG	TAGGAAAGTT	TGTTTATAGT	AGGTTTATTAT	ATGCTGATAT	14160
GATATGtag	atgtatattt	tgctgttgat	agtttttttt	agagttatga	ttgttttgag	14220
tgttttgat	tggttttaagt	astatagaag	ttgttttgta	tatttttgat	tttttttgta	14280
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	ttgttttgat	gttttttgag	14340
tgttttttt	ttgttttttt	ttgttttttt	tatttttttt	agattttttt	tgtttttttt	14400
ttgttttttt	asttttttt	astttttttg	aggttttttt	gatttttttt	ttgttttttt	14460
ttgttttttt	ttgttttttt	ttgttttttt	attttttttt	attttttttt	ttgttttttt	14520
cgtttttttt	cggttttttt	tttttttttt	tttttttttt	agattttttt	atgttttttt	14580
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	ttgttttttt	gttttttttt	tttttttttt	14640
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	gttttttttt	gttttttttt	gttttttttt	14700
gtgttttttt	tttttttttt	gttttttttt	attttttttt	tttttttttt	cgattttttt	14760
tgattttttg	attttttttt	agtttttttt	gttttttttt	tatttttttt	ttgttttttt	14820
atgttttttt	tttttttttt	gttttttttt	agattttttt	gatttttttt	gttttttttt	14880
tttttttttt	ttgttttttt	gttttttttt	aaattttttt	attttttttt	tttttttttt	14940
tttttttttt	aaattttttt	tttttttttt	gttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	15000
gttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	gttttttttt	15060
tttttttttt	aaattttttt	tttttttttt	tttttttttt	gttttttttt	attttttttt	15120
tgatttttttt	gttttttttt	gttttttttt	gttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	15180
ttgttttttt	ttgttttttt	gttttttttt	gttttttttt	ttgttttttt	agtttttttt	15240
tttttttttt	tttttttttt	agattttttt	tatttttttt	gttttttttt	tttttttttt	15300
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	15360
aggttttttt	gttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	atgttttttt	15420
ttgttttttt	gttttttttt	gttttttttt	agattttttt	agattttttt	ttgttttttt	15480
tttttttttt	tttttttttt	agattttttt	tttttttttt	tttttttttt	gttttttttt	15540
tttttttttt	ttgttttttt	tttttttttt	gttttttttt	tttttttttt	agattttttt	15600
agtttttttt	agtttttttt	tttttttttt	cgattttttt	tttttttttt	agatttttttt	15660
agtttttttt	gttttttttt	atgttttttt	atgttttttt	gttttttttt	tttttttttt	15720
ttgttttttt	gttttttttt	tttttttttt	ttgttttttt	ttgttttttt	ttgttttttt	15780
agtttttttt	ttgttttttt	atgttttttt	atgttttttt	atgttttttt	agattttttt	15840

【图 3 5】

[illegible]

【图 3 6】

[illegible]

【図 4 1】

gtoatettta	aatatttttg	agggagaaag	ttttagggta	atttttttga	agatggggt	7980
tggtttttg	ttagagtttg	aggttagaga	aaagattgat	agggattga	ttatggtttg	8000
ttgttagaga	ttatgatata	gattttagtt	atggagagat	agggggagat	tttttttggt	8140
agggatggga	agggatattt	tttttttgat	aaagagaggt	gttagggatt	ttggagtttt	8160
ttgttagata	ttatttagga	aggtttttga	gtttagggat	tttttttgat	gttttttga	8220
ttatagattg	attttttttt	tttttttga	gtttttttt	tttttttga	gaatttttg	8280
tttttttga	ttttttttt	ttgggattta	gttttttga	aaatttttt	atttttttt	8340
ggggagagat	aaatattttg	gttttaggtt	ttttttttt	tttttttga	ggggagagga	8400
gtatatttt	ttatgttttg	atttttttga	agggggggag	gtatttttt	ttttttttt	8460
ttttttttt	gttttaggtt	gatttttga	gaagattttt	gtatttttt	ttttttttt	8520
agttttttt	agttttttt	ttgttttgat	gttttggttt	ttgttttga	ggggggggt	8580
gggtttttt	ttttttttt	ttgttttgat	agttttttt	ttatgtttt	agtttttat	8640
agggatgga	gggttttga	aggttagatt	taatttttt	tttttttga	gggttttat	8700
ttgttttag	gtatttttg	tttttttga	aaagatttt	ttttttttt	ttgtttttt	8760
gggttttat	agttttttt	aggtttttt	ttataggttt	ttttttttt	ttttttttt	8820
ttatatttt	agtttttga	ttgtttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	8880
ttttttttt	ttgtttttt	ttgtttttt	ttttttttt	ttgtttttt	ttttttttt	8940
ttgttttat	ttgtttttt	ttttttttt	agtttttat	agggagagga	aggggttat	9000
agtttttat	agttttttt	ttataggttt	ttttttttt	gggttttga	agggagagga	9060
ttgttttat	ttgtttttt	agtttttat	agtttttat	agtttttat	gttttttat	9120
agtttttat	agggagagga	gttttttat	ttgttttat	gttttttat	ttgttttat	9180
ttgttttat	ttgtttttt	gttttttat	aaatttttt	ttgttttat	gttttttat	9240
tttttttat	tttttttat	gttttttat	agtttttat	tttttttat	agtttttat	9300
ttgttttat	gttttttat	agtttttat	agtttttat	ttgttttat	gttttttat	9360
tttttttat	atttttttt	tttttttat	agtttttat	gttttttat	gttttttat	9420
ggggaggtt	agtttttat	gggggttat	ttgttttat	agtttttat	ttgttttat	9480
gggttttat	agggagagga	gggggttat	ttgttttat	ttgttttat	ttgttttat	9540
ttgttttat	aggttttat	attttttat	gttttttat	ttgttttat	tttttttat	9600
tttttttat	gttttttat	tttttttat	tttttttat	gttttttat	tttttttat	9660
ttgttttat	gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	ttgttttat	9720
tttttttat	tttttttat	tttttttat	aggttttat	ggggaggtt	agtttttat	9780
ttgttttat	aggttttat	tttttttat	gttttttat	ttgttttat	agtttttat	9840
agtttttat	tttttttat	ttgttttat	gttttttat	ttgttttat	agtttttat	9900

【図 4 2】

agagtagagt	ttttttgatt	tttttagagt	tagttagaaa	agagtagaaa	ttagtgtttt	9060
agotatagag	tttttagagt	gtatagagaa	agagtagaaa	agagtttagt	tagatagaaa	10020
agagtagaaa	tttttagagt	gtatagagtg	tttttagagt	tttttttttt	tttttagagt	10080
tagagtagaa	gtatagattt	tttttttttt	tagatagaaa	agagtagaaa	tttttttttt	10140
TTTAATTGAG	TTTAAGGTAG	TTTAAGGAGT	TTTAAGGTTG	GATGATGATG	TGATGAGAGT	10200
TTTGTAGAGT	ATTTTGTTGT	TGAGTGTAGT	ATTTTATTAG	TTTGTGTAGA	GTGTGAAATT	10260
TTTTTTTTTT	TTATAGAGTA	TAGAAATTTT	TGAGTTTGTG	GATTGGAATA	TGAGTTTATT	10320
GATTTTTTAT	TTTATAGAGT	tttttagagt	agagtagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	10380
agagtagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	agagtagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	10440
agagtagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	agagtagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	10500
agagtagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	agagtagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	10560
agagtagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	agagtagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	10620
GAGTGTAGTT	AGGAAAGTAT	GATGATATAT	TGAGTTTGTG	AGTAGAGTTT	TGATATTAG	10680
TTTATTGAGG	TTTGTGTGAA	ATTATTTAGG	agagtagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	10740
agagtagaaa	tttttagagt	tttttttttt	tagatagaaa	tagatagaaa	tttttttttt	10800
TTTGTGTGAGT	TTTGTGAGAG	GAGGAGGAGG	AGGAAATATA	GAAGGTATAG	TTAGTTTGAG	10860
TAGGTTAGAG	ATTATAGGAT	TAGGTTTATG	ATTATGTTAT	TAGTGTGCGG	TGTTTTTTAT	10920
TTTGTGTGAT	GTTTTTATTT	TGAGGTTTAT	TTTTTTTAT	tagatagaaa	tagatagaaa	10980
agagtagaaa	agagtagaaa	tagatagaaa	agagtagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11040
agagtagaaa	agagtagaaa	tagatagaaa	agagtagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11100
tttttagagt	tttttagagt	agagtagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11160
tagatagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	tagatagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11220
agagtagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	tagatagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11280
tagatagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	tagatagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11340
tagatagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	tagatagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11400
tagatagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	tagatagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11460
tagatagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	tagatagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11520
tagatagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	tagatagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11580
tagatagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	tagatagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11640
tagatagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	tagatagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11700
tagatagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	tagatagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11760
tagatagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	tagatagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11820
tagatagaaa	tagatagaaa	tttttagagt	tagatagaaa	tagatagaaa	tagatagaaa	11880

【圖 4 3】

tgattttaga	gxttttasat	atlaugghat	atgatattat	ttattttgat	ttttaaatat	11940
aaatatatt	atgtttuaat	ttanaagaa	aaatatgatt	ttatggaga	tatatagaag	12000
ataataatg	ttttttttat	tttttttga	aaattttgat	ttttttttat	aggtttttat	12060
gagattttat	gtttttttta	ttattttttt	aatgttttat	gattgtttat	ttattttttt	12120
atataaatat	atttttttat	ttgtttatat	ttttttgaa	ttttttttat	ataagtttga	12180
ttttttgitt	ttattttgat	gtttttttat	ttgttttata	ttaaagttaa	gtttgtttga	12240
atgtatgatt	tttgttttat	atttttttat	tttttttgat	ttaatgttat	gattttttga	12300
atgtttgat	agatttttat	ttgttttata	ttgttttaat	ttttttttat	ttaaatatat	12360
aaatatattg	tttttttat	ttgttttgat	ttgttttat	atttttttat	gattttttga	12420
ttgtttgat	atttttttat	agatttttat	atttttttat	atttttttat	atttttttat	12480
atttttgatt	gttttttat	ttatgtttta	tttttttat	atttttttat	tttttttat	12540
ttgtttgatt	aaatttttat	aaatttttat	atttttttat	tttttttat	tttttttat	12600
ttttttgatt	aaatttttat	atttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	12660
aaatatattg	gttttttat	aaatatattg	tttttttat	tttttttat	tttttttat	12720
attttttgatt	gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	12780
gtttttgatt	gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	12840
aaatatattg	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	12900
gatttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	12960
gatttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13020
gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13080
tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13140
gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13200
gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13260
gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13320
tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13380
gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13440
gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13500
gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13560
gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13620
gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13680
gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13740
gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13800
gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13860
gttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	tttttttat	13920

【圖 4 4】

agtgatgtt	agtttggtt	tgttaattg	atttgatga	taagttago	ttttgttta	13920
aaatataaa	aatatattg	agtgatgat	tttatattg	aattttagt	tttttaggg	13980
taagttaga	agtgatgtt	aggtataga	gttgatgat	atttgtaga	tatagtaga	14040
ttttttatt	aatatattg	atttttgat	tttttagag	taagtattg	agtatagta	14100
gatgatgta	tgtatttta	atttgatga	taagttaga	ttttgttta	aaataaaaa	14160
aatataaat	tttatagat	aaatatatt	gtatataag	aaataagta	gttttagaa	14220
gtatataat	taaaattatt	tatagaattg	tttttagat	ttttttttt	tagaatttt	14280
gtttgataa	gtgtttatt	aaatttttt	aaattatag	gttaaaattg	aaataattt	14340
aggttttag	gtgttttag	tttttatat	tttttagat	tttttagtt	atttttttt	14400
gtttgttta	ttttttatt	tttttagaa	aaatttatag	tttttagat	tttttagtt	14460
gttttaggt	ttttttatt	taagttaga	gttttagaa	taagtgttt	aaagttaga	14520
atttgattt	tttttttta	aaatttttt	tatagttag	agtttagga	gtatagtag	14580
taagtattg	ttttttttt	atttgatgt	aggttagaa	ttttttttt	aggttagaa	14640
taagttaga	taaaatagat	taagttaga	agtttatag	taagtattt	aggttagat	14700
aaatttagt	gttttagta	agttttttt	aaagttaga	atttttttt	aaagttagt	14760
tttttagtag	gttttagat	taagttaga	atttttttt	aaagttagt	agtttagta	14820
tttttagaa	aaatttatg	aaagttagt	aaagttaga	aaatttttt	aaatttttt	14880
aggttagat	gtatgatga	gtatgatga	taagttaga	gtatgatga	gttttagaa	14940
taagttaga	taagttaga	agtttttta	tttatattt	agtttagtt	tttttaggt	15000
gtttttatt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	aaatttttt	ttttttttt	15060
taagttaga	gttttagaa	taatttttt	ttttttttt	ttttttttt	taagttaga	15120
taatttttt	gttttagtt	tttttaggt	taagttagt	aaatttttt	ttttttttt	15180
gtttttttt	ttttttttt	tttttagta	taagttagt	ttttttttt	gttttagta	15240
tttttagtt	ttttttttt	atttttttt	ttttttttt	tttttaggt	aaatttttt	15300
gttttagta	ttttttttt	taagttaga	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	15360
ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	15420
ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	15480
ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	15540
ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	15600
tttttttag	gtttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	15660
taagttaga	gtttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	15720
taagttaga	gtttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	15780
aaatttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	ttttttttt	15840

【圖 4 5】

tattttagat	tttttttttaa	tatagatagaa	gtttttttat	gtttgtttga	tigtgttttaa	15690
atttttttagt	ttagtttaatt	tttttttttto	gtgttttttaa	agtgtataga	ttatagacat	156980
gagttatttt	attttgttaatt	gttttttttt	tttttttttt	agtgttttaa	tttttttttt	16020
tgtttgtatt	tgttttttgt	tttttttttt	tttttttttt	aggttttttt	atttttttttt	16090
tttttttttt	tatttttttt	tttttttttt	attttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16140
ttttgtattt	aggttttttt	gtttgttttt	tttttttttt	attttgtttt	tttttttttt	16200
gttttttttt	aggttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16260
ttttgttttt	agtttttttt	gttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16320
gttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16380
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16440
tgtttttttt	tatttttttt	attttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16500
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16560
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16620
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16680
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16740
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16800
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16860
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16920
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	16980
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17040
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17100
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17160
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17220
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17280
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17340
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17400
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17460
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17520
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17580
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17640
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17700
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17760
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17820
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17880
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	17940
tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	tttttttttt	18000

【圖 46】

ssgsgsgsgt	tttgatgsgt	sttgsgtttt	sgsgsgsgt	tgsgtttgt	tggsgttttt	17880
sssgsgsgtt	sttgsgsgsg	sgsgsgtttt	sgsgsgsgsg	sgsgsgsgt	sgsgsgsgt	17940
tgsgsgttgt	tgsgtgsgt	agsgtttgt	sttgsgttgt	agtgsgtggt	gttttgtttt	18000
tttgsgsgt	tgsgtgsgt	ttttttttt	tgsgtgsgt	stsgsgsgsg	gtsgtttttt	18060
sgsgsgsgt	tttgsgttgt	tttgsgtggt	gtttgtsggt	gttgsgsggt	stsgsgsggt	18120
sgsgsgsgt	tttttttgt	tttgsgtgt	tgsgsgtttt	agsgtttgt	gttgsgsgt	18180
sttgsgsgt	sgsgsgsgt	stsgsgtgt	tttgsgsgt	tgsgsgsgt	tgsgtttttt	18240
tttgsgsgt	tgsgsgttt	sgsgsgttgt	sgsgsgsgt	tgsgtgsgt	stsgsgttgt	18300
ttttgtgt	tgsgsgtgt	gttgsgsgt	tgsgsgsgt	gttgsgttgt	sttgsgtgt	18360
sttgsgsgt	tgsgtttgt	ttttgttgt	sgsgsgsgt	stsgsggt	stsg	18404

【図 47】

(a)

Wild type DNA

5' - AGCTCGCGATGCCAGCTCGTCC - 3' sense strand
3' - TCAGCGCTACGATCGACCGAGC - 5' antisense strand

(b)

Disubstituted

5' - AGTTCCGCGATGTTAGTTCGTTCC - 3' sense strand
3' - TTGAGCGCTATCGTTGAGCGAGC - 5' antisense strand

(c)

FW primer

5' - AGTTCCGCGA
5' - AGTTCCGCGATGTTAGTTCGTTCC - 3' sense strand
3' - TCAAGCAAGC - 5' RV primer

(d)

FW primer

5' - AACTCCCGA
3' - TTGAGCGCTATCGTTGAGCGAGC - 5' antisense strand
3' - TTGAGCGAGC - 5' RV primer

【圖 48】

(a)

REP-S1 : 5' -CAGCCAGTGGAGTGGCAG-3'

(b)

REP-AS1 : 5' -GAGGAGGTGCAGCTAGTCTG-3'

(c)

(#7441)

CAGGCCAGTGGAGTGGCAGCCCCAGAACTGGGACCACTGGGGTGGTGA

REP-S1 HpaII

GGCGGCCCGCACTGGGAGCTGCATCTGAGGCTTAGTCCCTGAGCTCTCT

HpaII

GCCTGCCCAGACTAGCTGCACCTCCTC (#7565)

REP-AS1

[4 9]

(a)

REP-S2 : 5'-GAAAGCACTGGCTTTGGAAC-3'

(b)

REP-AS2 : 5'-ATCGAGTGAGTCCTGCTGGAT-3'

(c)

(#8858)

CAAAGCACTGGCTTTGGAACCGGACTGTCTGGGTTTGAATCCTGGCACTG

REP-S2 Hpa II

CAGCTGACTCACTGATGGACTCAGGCAATGCCCTAAACTCCCTGAGCCTG

AGTTTCCTTGTCTGTAAATGATAAGATAGCCCTGTTTCATAGGGCTGT

GGTGAGAAACCAATCAGACAGGCATGTGAACGCCATTATAGCAGCG

CCCGGCATCCAGCAGGACTCACTGGAT (#7084)

Hpa II REP-AS2

[5 0]

(a)

SHP1-PF1: 5'-TGTCTGGAGGCCACGGTCAATGA-3'

(b)

SHP1-PR1: 5'-GTTTGTATTGGTTGTGTGTCATGCTC-3'

[5 1]

(a)

SHP-LF1: 5'-CCGAGTTCATTGAAACCACT-3'

(b)

SHP-LR1: 5'-CGTTGCTGTTGCTCCTGTGT-3'

[5 2]

(a)

MF2 : 5'-GAACGTTATTATAGTATAGCGTTC-3'

(b)

MR2 : 5'-TCAGGCATACGAACCAACG-3'

(c)

(#7037)

GAACGCCATTATAGCAGCGCCCGGCATCCAGCAGGACTCACTGGAT

MF2

GACAGTTGTACCGCCATCATTGTTATTAGCGTGCGCCAGGAGGCGT

GCCTAAAGCAGCTGCTGGAGGAGGAGAGATGCCGTGGACCGTCTGGGTTCCGATCGGTGA (#7105)

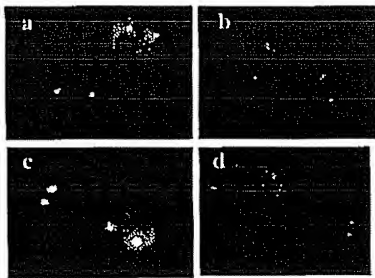
MR2

[5 3]

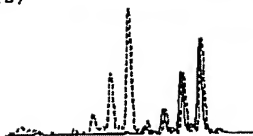
(a)

FISH analysis of ILTMot and NK-YS cells with chromosome 12 or SHP1-specific probes

cells	probe	positive signal No.(%)					
		0	1	2	3	4	more
ILTMot	Ch #12	1	1	97	1	0	0
	SHP1	1	2	95	1	1	0
NK-YS	Ch #12	0	0	99	1	0	0
	SHP1	1	3	91	4	1	0



(b)



Microsatellite marker	LOH
D12S356	15/19 (79 %)
D12S336	6/16 (38 %)

フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
G 0 1 N 27/447	G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/566	
G 0 1 N 33/566	C 1 2 N 15/00	A
	G 0 1 N 27/26	3 0 1 A
	G 0 1 N 27/26	3 1 5 J

F ターム (参考) 4B063 QA01 QA13 QQ08 QQ33 QQ43 QQ53 QQ62 QR08 QR14 QR32
QR50 QR62 QS11 QS16 QS25 QS34